

Vol. 19, No. 3

MAY, 1934

THE JOURNAL OF BIOCHEMISTRY

WITH THE COOPERATION OF

SHIGERU AKAMATSU, Chiba; TORASABURO ARAKI, Kyoto; NOBORU ARIYAMA, Niigata; KIKO GOTO, Kyoto; KIKUNAE IKEDA, Tokyo; KATSUJI INOUE, Sendai; SHIGERU TODA, Hoten; SHICHIZO KATO, Kumamoto; MITSUGI KIKUCHI, Tokyo; KEIZO KODAMA, Fukuoka; CHIKAHIKO KOIZUMI, Tokyo; SHIGERU KOMATSU, Kyoto; YASHIRO KOTAKE, Osaka; KANAYE MAYEDA, Kyoto; KOJI MIYAKE, Sapporo; TAKEYOSHI NAGAYAMA, Tokyo; KAORU OGURO, Sapporo; YUZURU OKUDA, Fukuoka; TETSUTARO TADOKORO, Sapporo; TAKAOKI SASAKI, Tokyo; GOZO SATO, Keijo; TORAI SHIMAMURA, Tokyo; TAYEI SHIMIDZU, Okayama; UMETARO SUZUKI, Tokyo; YUUJI SUYEYOSHI, Tokyo; MASAJI TOMITA, Nagasaki; MAKOTO YAMAKAWA, Tokyo
KIVOHISA YOSHIMURA, Kagoshima.

EDITED BY

SAMURO KAKIUCHI

Professor in the Tokyo Imperial University

Reprinted by
TOA BOOK EXPORTS, INC.

Tokyo Kosho Kaikan Building
Kanda Ogawa-cho 3-22, Tokyo
CABLE: Toaperiodical, Tokyo
PHONE: Tokyo 291-1448

STUDIEN ÜBER GASWECHSEL DES GEWEBES IN VITRO. VI.

Messung der Gewebsatmung und Glykolyse beim Auftreten des Ammoniakgases.

VON

YUSIRO OGATA.

(Aus dem Physiol. Institut der Mediz. Fakultät zu Kumamoto.
Vorstand: Prof. S. Kodama)

(Eingegangen am 15. Dezember 1933)

Wenn man die Gewebsatmung in vitro manometrisch studiert, begegnet man nicht selten dem Fall, dass die Berechnung der Menge der verschwundenen und entstandenen Gase im Atemgefäß, O_2 und CO_2 , nach den bekannten Formeln von Warburg (1924, 63) aus den Manometerausschlägen nicht zutrifft. Die Rechnung zeigt in solchem Fall irrationale Resultate, d.h. das Gewebe hätte O_2 ausgeatmet und CO_2 eingeatmet (Okabe, 1934). Nach Okabe ist solches irrationale Resultat dadurch verursacht, dass in dem Gasraum des Atemgefäßes Ammoniakgas vorhanden ist, welches höchst wahrscheinlich von dem Gewebe ausgetrieben wurde.

Die Tatsache, dass Ammoniakbildung in mehreren tierischen Organen entstehen kann, ist allgemein bekannt. Dass das Ammoniak, welches aus dem Gewebe ins flüssige Medium ausgeschieden worden ist, flüchtig in den Gasraum eindringen kann, wurde aber wenig bemerkt. Jedoch ist entdeckt worden, dass Nerven- und Muskelsubstanz im vom Körper isolierten Zustand als ihr Stoffwechselprodukt flüchtiges Ammoniakgas bilden (Tashiro, 1922; Lee und Tashiro, 1922; Winterstein und Hirschberg, 1925; Halter, 1932).

In vorliegender Arbeit haben wir einige Möglichkeiten der manometrischen Atmungsmessung des Gewebes beim Auftreten des Ammoniakgases in dem Gasraum des Atemgefäßes untersucht und eine Modifikation der Rechnungsformeln von Warburg vor-

geschlagen.

I. MÖGLICHKEITEN MANOMETRISCHER MESSUNG DER GEWEBS-
ATMUNG IN VITRO BEIM AUFTRETEN DES AMMONIAKGASES
MITTELS EINIGER MODIFIKATIONEN.

1) Okabe (1934) bestimmte die Menge des Ammoniakgases in dem Gasraum des Atemgefäßes chemisch nach der Beendigung der manometrischen Messung, korrigierte die beobachteten Manometerausschläge mit den durch diese Ammoniakmenge hervorzu- bringenden Manometerausschlägen und berechnete dann den Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureausscheidung nach den gewöhnlichen Formeln von Warburg (1924, 63).

Okabe's Methode ist im Prinzip sehr einfach, praktisch ist es aber nicht ganz leicht, die entstandene, meist sehr geringe Menge des Ammoniakgases genau zu bestimmen. Dass der zeitliche Verlauf der Atmung durch dieses Verfahren nicht verfolgt werden kann, ist ein weiterer Nachteil.

Die Ammoniakmenge (X_a) im Gasraum, welche bei der Mes- sung der Gewebsatmung und -glykolyse als Manometerausschlag (H) zum Vorschein kommen kann, ist nach Okabe durch folgende Formel zu bezeichnen:

$$X_a = H \frac{V_g \frac{273}{T}}{P_0} \quad (1),$$

wobei V_g das Gasvolum des Atemgefäßes in cmm, T die absolute Versuchstemperatur (311°), und P_0 den Normaldruck in mm Brodie's Flüssigkeit bedeutet.

Hieraus folgt

$$\frac{X_a}{V_g} = H \frac{273}{T \cdot P_0} \quad (2).$$

Die linke Seite dieser Gleichung zeigt die Konzentration des Ammoniakgases im Gasraum. Um 0,1 mm Manometerausschlag, welcher als die minimale der Beobachtung zugängliche Ver- änderung anzusehen ist, hervorzubringen, muss der Prozentsatz des Ammoniakgases im Gasraum also $8,78 \cdot 10^{-4}\%$ sein.

Die Ammoniakmenge in ca. 10 ccm Gasraum des Atemgefäßes mit diesem Prozentsatz ist $8,78 \cdot 10^{-2}$ ccm, welche zu gering ist, um durch chemische Analyse hinreichend genau bestimmt werden zu können.

2) Wenn das Ammoniakgas, welches in den Gasraum des Atemgefäßes eingetreten ist, durch irgendein Absorptionsmittel (H_2SO_4 oder HCl) absorbiert wird, wie die Kohlensäure durch Kalilauge, kann die Berechnung der Atmung und Glykolyse ohne weiteres nach den Formeln von Warburg ausgeführt werden. Dazu wird normale Schwefelsäure geeignet sein. Näheres darüber wird in einer andern Mitteilung berichtet werden. Hierbei kann man den zeitlichen Verlauf der Atmung und Glykolyse verfolgen, aber denjenigen der Ammoniakentwicklung nicht.

3) Es ist wünschenswert, auch den zeitlichen Verlauf der Ammoniakentwicklung verfolgen zu können. Das ist nun gerade die Hauptaufgabe unserer vorliegenden Arbeit, und über die Lösung wird in den nächsten Abschnitten berichtet.

II. MODIFIKATIONEN WARBURG'SCHER FORMELN FÜR MANOMETRISCHE MESSUNG DER ATMUNG UND DER GLYKOLYSE DES GEWEBES IN VITRO BEIM AUFTRETEN DES AMMONIAKGASES.

Prinzip. A) Messung des O_2 -Verbrauches und der CO_2 -Ausscheidung.

Wir bezeichnen mit X, H und K die Menge des entstandenen (oder verschwundenen) Gases (emm), die Druckveränderung (mm) und die Gefäßkonstante, mit den Indizes "o" für O_2 , "c" für CO_2 und "a" für Ammoniak. Führen wir drei Messungen mit verschiedenen Flüssigkeitsmengen (Vf), aber unter sonst gleichen Bedingungen aus, so erhalten wir drei Gleichungen von der Form, (mit Strich "'" unterscheiden wir drei Manometer von einander):

$$\begin{aligned} X_o &= H'_o \cdot K'_o = H''_o \cdot K''_o = H'''_o \cdot K'''_o, \\ X_c &= H'_c \cdot K'_c = H''_c \cdot K''_c = H'''_c \cdot K'''_c, \\ X_a &= H'_a \cdot K'_a = H''_a \cdot K''_a = H'''_a \cdot K'''_a. \end{aligned} \quad (3).$$

Bezeichnen wir mit H_1 , H_2 und H_3 die beobachtete Druck-

veränderung an den drei Manometern A, B und C, so haben wir

$$H_1 = H'o + H'e + H'a = \frac{X_o}{K'o} + \frac{X_c}{K'e} + \frac{X_a}{K'a}, \quad (4).$$

$$H_2 = H''o + H''e + H''a = \frac{X_o}{K''o} + \frac{X_c}{K''e} + \frac{X_a}{K''a},$$

$$H_3 = H'''o + H'''e + H'''a = \frac{X_o}{K'''o} + \frac{X_c}{K'''e} + \frac{X_a}{K'''a}.$$

Diese Gleichungen, nach X_o , X_c , X_a und γ (das Verhältnis X_c/X_o) aufgelöst, ergeben:

$$\begin{aligned} X_o &= \frac{H_1 \cdot K_c \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}{K'o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)} + \frac{H_2 \cdot K'e \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}{K'o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)} + \frac{H_3 \cdot K'o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}{K'o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}, \\ X_c &= \frac{H_1 \cdot K_o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}{K'o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)} + \frac{H_2 \cdot K_o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}{K'o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)} + \frac{H_3 \cdot K'o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}{K'o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}, \quad (5). \\ X_a &= \frac{H_1 \cdot K_o \cdot K_c (K'o \cdot K'e - K'o \cdot K'e)}{K'o \cdot K_c (K'o \cdot K'e - K'o \cdot K'e)} + \frac{H_2 \cdot K_o \cdot K_c (K'o \cdot K'e - K'o \cdot K'e)}{K'o \cdot K_c (K'o \cdot K'e - K'o \cdot K'e)} + \frac{H_3 \cdot K'o \cdot K_c (K'o \cdot K'e - K'o \cdot K'e)}{K'o \cdot K_c (K'o \cdot K'e - K'o \cdot K'e)}, \\ \gamma &= -\frac{K_c \cdot K'e \cdot K'o}{K'o \cdot K_o \cdot K'o} \times \frac{H_1 \cdot K_o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}{H_1 \cdot K_c \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)} + \frac{H_2 \cdot K_o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}{H_1 \cdot K_c \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)} + \frac{H_3 \cdot K'o \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}{H_1 \cdot K_c \cdot K_a (K'o \cdot K'a - K'e \cdot K'a)}. \end{aligned}$$

Es ist selbstverständlich erforderlich, die Druckveränderungen H_1 , H_2 und H_3 auf gleichartige Gewebeschnitte mit gleichen Gewichten zu beziehen.

B) Messung des Sauerstoffverbrauches.

Einfacher ist das Verfahren, wenn nur die Messung des Sauerstoffverbrauches erforderlich ist, ohne Rücksicht auf die CO_2 -Ausscheidung. Hierbei verwenden wir 5%ige Kalilauge als Absorptionsmittel der Kohlensäure wie bei der ersten Methode von Warburg (1923, 324).

Zwei Messungen mit verschiedenen Flüssigkeitsmengen in Atemgefäßen sind hier genügend, und die Gleichungen für den Sauerstoffverbrauch und die Ammoniakentstehung sind, wie folgt:

$$\begin{aligned} X_o &= \frac{K'o \cdot K''o}{K''o \cdot K'a - K'o \cdot K''a} (H_1 \cdot K'a - H_2 \cdot K''a), \\ X_a &= \frac{K'a \cdot K''a}{K'o \cdot K''a - K''o \cdot K'a} (H_1 \cdot K'o - H_2 \cdot K''o). \end{aligned} \quad (6).$$

C) Messung der anaeroben Glykolyse.

Die Rechnungsformeln für die Glykolyse und die Ammoniakentstehung sind analog den Gleichungen (6), nur mit dem Unterschied, dass anstatt X_o und K_o , X_c und K_c zu setzen ist.

$$\begin{aligned} X_c &= \frac{K'c.K''c}{K''c.K'a-K'c.K''a} (H_1.K'a-H_2.K''a), \\ X_a &= \frac{K'a.K''a}{K'c.K''a-K''c.K'a} (H_1.K'c-H_2.K''c). \end{aligned} \quad (7).$$

D) Manometrische Entscheidung, ob Ammoniakgas in dem Gasraum des Atemgefäßes auftritt oder nicht.

i) Bei der Messung der Gewebsatmung.

Wenn das Gewebe Ammoniakgas in den Gasraum des Atemgefäßes nicht eintreibt, dann kann man den Quotienten, wie folgt, bezeichnen:

$$\begin{aligned} \gamma &= \frac{K'c.K''c(H_2.K''o-H_1.K'o)}{K'o.K''o(H_1.K'c-H_2.K''c)} \\ &= \frac{K'''c.K'c(H_3.K'o-H_2.K'''o)}{K''o.K'''o(H_2.K'c-H_3.K'''c)} \\ &= \frac{K'c.K'''c(H_3.K'''o-H_1.K'o)}{K'o.K'''o(H_1.K'c-H_3.K'''c)}. \end{aligned} \quad (8),$$

folglich:

$$\begin{aligned} \frac{K'''c.K'c(H_3.K'''o-H_1.K'o)}{K'c.K'''c(H_3.K'o-H_1.K'''o)} - \frac{K''c.K'c(H_2.K''o-H_1.K'o)}{K''o.K'o(H_1.K'c-H_2.K''c)} &= 0, \\ \frac{K'''c.K'c(H_1.K'''o-H_3.K'o)}{K'o.K'''o(H_1.K'c-H_3.K'''c)} - \frac{K''c.K'''c(H_3.K'''o-H_2.K''o)}{K''o.K'''o(H_2.K'c-H_3.K'''c)} &= 0. \end{aligned} \quad (9),$$

oder

$$\begin{aligned} H_1.K'o.K'c(K'''o.K''c-K''o.K'''c) \\ + H_2.K''o.K''c(K'o.K'''c-K'''o.K'c) \\ + H_3.K'''o.K'''c(K'o.K'c-K'o.K''c) &= 0. \end{aligned} \quad (10).$$

Den Wert der linken Seite werden wir "Fr" nennen, und er muss gleich Null sein, wenn kein Ammoniakgas im Atemgefäß entsteht. In solchen Fällen kann man sich mit zwei Messungen

an gleichartigen Gewebeschnitten in verschiedenen Flüssigkeitsmengen begnügen.

In Wirklichkeit mag es aber schwer sein, dass das "Fr" den Wert von Null annimmt, infolge der Messungsfehler ($\pm 0,5$) mm und des Sachverhalts, dass die Atmungen an den Gewebeschnitten in den drei Atemgefäßen nicht ganz als homolog anzusehen sind.

Wir haben den maximalen Wert von "Fr" berechnet, unterhalb dessen die Ammoniakentstehung praktisch vernachlässigt werden kann, wenn der Wert auch nicht Null ist. Tabelle (I) zeigt solche Werte von "Fr" bei verschiedenen X_o innerhalb 100 cmm, und γ innerhalb 4, wenn $V_g = 10$ ccm und $V_f = 1,0$ ccm, $= 2,5$ ccm und $= 4,0$ ccm.

Die Tabelle zeigt, dass der Wert "Fr" höchstens gleich oder kleiner als $2,0 \cdot 10^{-2}$ sein soll, wenn die Ammoniakentstehung vernachlässigt werden kann.

ii) *Bei der Messung des Sauerstoffverbrauches oder der Glykolyse des Gewebes.*

In diesen Fällen kann man die dem "Fr" entsprechenden Bezeichnungen "Fo" beim Sauerstoffverbrauch und "Fc" bei der Glykolyse einfacher von folgenden Gleichungen ableiten:

$$\begin{aligned} H_1.K'O - H_2.K''o &= 0 (= Fo), \\ H_1.K'c - H_2.K''c &= 0 (= Fc). \end{aligned} \quad (11).$$

Natürlich ist es hier auch schwer, dass das "Fo" und "Fc" den Wert Null annimmt, auch wenn die Entstehung des Ammoniakgases ausgeschlossen werden kann. Die maximalen Werte von "Fo" und "Fc", unterhalb deren die Entstehung des Ammoniakgases vernachlässigt werden kann, werden wie i) berechnet bei verschiedenen X_o und X_c innerhalb 100 cmm, wenn $V_g = 10$ ccm, $V_f = 1$ ccm und 4 ccm (Tabelle II und III) ist.

Der Mittelwert ist in beiden Fällen 0,2.

III. DIE GEFÄSSKONSTANTE FÜR AMMONIAKGAS.

Die Gefäßkonstante K_a für Ammoniakgas wird, wie folgt, gegeben:

TABELLE I.
Grenzwert bei der Messung des O_2 -Verbrauches und der
 CO_2 -Ausscheidung, unter welchem das Ammoniakgas
vernachlässigt werden kann.

Xo	Vg: 10 ccm										Vf: 1 ccm		2,5 ccm		4 ccm		Mittelwert
	10 emm	20 emm	30 emm	40 emm	50 emm	60 emm	70 emm	80 emm	90 emm	100 emm	Ko: 0,792	Kc: 0,846	0,664	0,798	0,536	0,751	
0,0	$3 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$6 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$							$2,9 \cdot 10^{-2}$
0,2	$6 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$							$2,6 \cdot 10^{-2}$
0,4	$0 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$6 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$							$2,8 \cdot 10^{-2}$
0,6	$0 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$							$1,3 \cdot 10^{-2}$
0,8	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$							$2,3 \cdot 10^{-2}$
1,0	$3 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$							$1,7 \cdot 10^{-2}$
1,2	$1 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$							$1,6 \cdot 10^{-2}$
1,4	$4 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$6 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$							$3 \cdot 10^{-2}$
1,6	$0 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$							$1,5 \cdot 10^{-2}$
1,8	$3 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$							$2,3 \cdot 10^{-2}$
2,0	$0 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$							$1 \cdot 10^{-2}$
2,5	$3 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$							$1,8 \cdot 10^{-2}$
3,0	$3 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$							$2,8 \cdot 10^{-2}$
3,5	$0 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$7 \cdot 10^{-2}$	$7 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$							$2,8 \cdot 10^{-2}$
4,0	$4 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$0 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$	$3 \cdot 10^{-2}$							$2,5 \cdot 10^{-2}$
Mittelwert	$2,1 \cdot 10^{-2}$	$1,9 \cdot 10^{-2}$	$1,8 \cdot 10^{-2}$	$2,5 \cdot 10^{-2}$	$2,6 \cdot 10^{-2}$	$2,3 \cdot 10^{-2}$	$1,8 \cdot 10^{-2}$	$2,3 \cdot 10^{-2}$	$2,7 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-2}$							$2,2 \cdot 10^{-2} \pm 0,1$

TABELLE II.

Grenzwert "Fo", unter welchem das Ammoniakgas bei der Messung des O₂-Verbrauches vernachlässigt werden kann.

Vg: 10 ccm Vf: 1 ccm 4 ccm Ko: 0,792 0,536			
Xo cmm	H ₁ mm	H ₂ mm	Fo
5	— 6	— 9	0,1
10	— 13	— 19	0,1
15	— 19	— 28	0,
20	— 25	— 37	0,
25	— 32	— 47	0,2
30	— 38	— 56	0,1
35	— 44	— 65	0,
40	— 51	— 75	0,2
45	— 57	— 84	0,1
50	— 63	— 93	0,1
55	— 69	—103	0,6
60	— 76	—112	0,2
65	— 82	—121	0,1
70	— 88	—131	0,5
75	— 95	—140	0,2
80	—101	—149	0,1
85	—107	—159	0,5
90	—114	—168	0,2
95	—120	—177	0,2
100	—126	—187	0,4
Mittelwert	0,2 ± 0,04		

$$K_a = \frac{V_g \frac{273}{T} + V_f \cdot \alpha_a}{P_0} \quad (12)$$

wobei P₀ den Normaldruck (10000 mm Höhe Brodie'scher Flüssigkeit) bedeutet, T die absolute Versuchstemperatur, α den Absorptionskoeffizienten des Ammoniakgases für Ringerlösung bei T, und Vf und Vg in cmm auszudrücken sind.

TABELLE III.

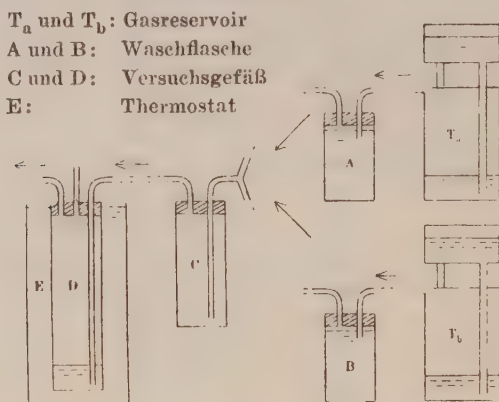
Grenzwert "Fc", unter welchem das Ammoniakgas bei der Messung der Glykolyse vernachlässigt werden kann.

Xe emm	H ₁ mm	H ₂ mm	Fc
	Vg: 10 ccm	Vf: 1 ccm Kc: 0,846	4 ccm 0751
5	6	7	0,2
10	12	13	0,4
15	18	20	0,2
20	24	27	0,
25	30	33	0,6
30	35	40	0,4
35	41	46	0,1
40	47	53	0,
45	53	60	0,2
50	59	67	0,4
55	65	73	0,2
60	71	80	0,
65	77	87	0,2
70	83	93	0,4
75	89	100	0,2
80	95	107	0,
85	100	113	0,3
90	106	120	0,5
95	112	126	0,2
100	118	133	0,1
Mittelwert			0,2± 0,08

Wenn man das Ammoniak, welches in der Flüssigkeit des Atemgefäßes physikalisch gelöst ist, vernachlässigt und nur das Gas im Gasraum in Betracht zieht, ist es nicht notwendig, den Absorptionskoeffizienten des Gases zu kennen. Wenn man aber die gesamte Menge des Ammoniaks, welches den Gewebeschnitten im Atemgefäß entstammt, bestimmen will, muss man den Koeffizienten kennen.

Der Wert des Absorptionskoeffizienten des Ammoniakgases für Wasser ist von verschiedenen Autoren verschieden angegeben. Er ist 426 bei 38° und 760 mm Hg nach Roscoe und Dittmar, und 459 nach Sims (257). Wir haben den Koeffizienten für Ringerlösung, welche in unserem Institut für das Gewebe des Kaninchens gebraucht wird, bei 38° und unter 760 mm Hg von Ammoniakgas bestimmt.

Abbildung.



Die Versuchsanordnung ist in der Abbildung gegeben. T_a und T_b sind zwei Gasreservoirs (ca. 20 Liter), von denen das erstere mit 7% kohlensäurehaltiger Luft, und das letztere mit reiner Luft angefüllt ist; A und B sind Waschflaschen, von denen die erstere verdünnte Schwefelsäure und die letztere Ammoniaklösung enthält. C ist eine Flasche (52,7 ccm), in welcher die kohlensäurehaltige Luft und das von B durch Luftstrom ausgetriebene Ammoniakgas so vermisch werden, dass der Gehalt der Kohlensäure im Gemisch ca. 3,5% wird. D ist eine Absorptionsflasche (123,2 ccm), welche 1 oder 5 ccm Ringerlösung enthält. In der Ringerlösung ist ein Ausführungsrohr des Gasgemisches so eingetaucht, dass das Gemisch durch die Ringerlösung ausströmen kann. Die gesamte Menge des Gemisches, welches durch die Flasche D ausströmen sollte, um das Absorptionsgleichgewicht zu erreichen, wurde nach der angegebenen Absorptionsmenge des

Gases im Wasser bei 0° und unter 760 mm Hg Ammoniakdruck bestimmt. Die Dauer des Versuchs betrug anderthalb Stunden.

Nach der Herstellung des Absorptionsgleichgewichts wurde der Partialdruck des Ammoniakgases in C zuerst bestimmt, welcher als an der Absorption beteiligter Partialdruck angenommen wurde. Dann wurde die gesamte Menge des Ammoniaks der Gasphase sowie der Flüssigkeit in D bestimmt. Die Menge des Ammoniaks in der Flüssigkeit, d.h. die in der Ringerlösung absorbierte Menge, wurde als Differenz zwischen der gesamten Menge und der Menge in der Gasphase in D berechnet. Die letztere wurde von dem Partialdruck in C und dem Volumen der Gasphase in D berechnet, mit Berücksichtigung der Temperatur beider Flaschen.

Die Bestimmung des Ammoniaks wurde im Grossen und Ganzen nach der Beschreibung von Pincussen (1930, 51) durchgeführt. Die Durchströmungsdauer und Geschwindigkeit des Luftstroms für die Austreibung des Ammoniaks in der Flasche in die Empfangsgefässe wurden ein wenig modifiziert. Die Durchströmungsgeschwindigkeit wurde nicht schneller als mit 10–12 Liter pro Stunde bestimmt, um das Entweichen des Gases durch die Empfangsgefässe zu vermeiden, was durch Färbung von Nessler's Reagens beurteilt wurde. Bei dieser Geschwindigkeit war die Dauer der Durchlüftung 30 Minuten für den Gasraum und zwei Stunden für die Flüssigkeit (bei ca. 1 mg Ammoniak im Gasraum und 16 mg in der Flüssigkeit) ausreichend. Folin's Angabe (1932, 144) über die Durchlüftungsgeschwindigkeit wurde für unseren Fall als zu gross befunden.

Bei der aktuellen Bestimmung wurde die Luft während der ersten 30 Minuten mit der Geschwindigkeit von 3–4 Liter pro Stunde durchströmt und dann mit der oben angegebenen Geschwindigkeit weiter 30 Minuten für den Gasraum und zwei und eine halbe Stunden lang für die Flüssigkeit.

Von der gefundenen Menge in der Ringerlösung wurde nun die unter dem Normaldruck des Ammoniakgases und bei 38° zu absorbierende Menge, d.h. der Absorptionskoeffizient des Ammoniakgases für die Ringerlösung umgerechnet (Tabelle 4). Unser Koeffizient α_n war $420 \pm 0,3$, welcher dem Wert von Roscoe und

TABELLE VI.

Absorptionskoeffizient (α_a) von NH_3 in Ringerlösung bei 38°C
(Wasserdampfdruck = 49,7 Hg mm).

Datum		28/IX 1932	29/IX 1932	30/IX 1923
Durchström. Gasmenge (Liter)		3,5	3,8	4,1
Zim. Temp. $^\circ\text{C}$		23,2	23,8	23,4
Luftdruck Hg mm		760,2	761,	761,5
CO_2 % im Gasgemisch		3,31	3,42	3,33
NH_3 im Gasraum	mg	0,84	0,94	0,94
	ccm	1,1	1,23	1,23
	Partiell. Druck Hg mm	16,3	17,8	17,8
NH_3 in der Ringerlös.		9,01	9,85	9,84
α_a		420	421	420

Dittmar für Wasser nahe ist.

IV. EIN EXPERIMENTELLES BEISPIEL UND EIN VERGLEICH ZWISCHEN DEM WERT NACH DER WARBURG'SCHEN METHODE UND DEM NACH DER MODIFIZIERTEN.

Die Atmung des Markgewebes der Kaninchenniere wurde in vitro manometrisch beobachtet, und die Berechnung wurde nach den Warburg'schen Formeln und unseren Modifikationen ausgeführt.

Dieses Experiment zeigt, dass das Ammoniakgas bei der manometrischen Atmungsmessung des Markgewebes nicht vernachlässigt werden darf, und dass das Ammoniakgas im Gasraum gegen unser Erwarten von der Ringerlösung absorbiert wurde. Wenn es wirklich so ist, dann muss das Ammoniakgas während der

Protokoll:

Atmung des Markgewebes der Kaninchenniere.

Datum: 24/X 1932

Versuchstemperatur: 38°C

Ringerlösung: 0,0136 N NaHCO_3 und 0,2% GlykoseGasgemisch: 3,5% CO_2 und 96,5% O_2

		V cc	Vg cc	Vf cc	Ko	Kc	Ka	Mg/Tr. Gew.
Gefäß A		10,68	9,68	1,	0,852	0,906	43,3	7,077
Gefäß B		10,87	8,37	2,5	0,741	0,875	107,	4,123
Gefäß C		11,43	7,43	4,	0,662	0,876	170,9	3,524
Zeit		H ₁ mm	H ₂ mm	H ₃ mm	Fr	Zim. Temp.	Luftdr.	
I. 30		+23,2	+19,4	+7,6	0,27	19,7	766,3	
II. 30		+19,7	+21,3	+15,1	0,32	20	766,3	
III. 30		+18,1	+21,6	+16,7	0,36	20,3	766,3	
nach Ogata	Zeit	Xo cmm	Xe cmm	Xa cmm	Qo cmm	Qc cmm	Qa cmm	
	I. 30	-82,5	+117,5	-433,5	-23,3	+33,2	-122,5	
	II. 30	-49,5	+80,8	-529,9	-14,	+22,8	-150,	
	III. 30	-43,	+74,2	-596,3	-12,2	+21,	-168,5	
nach Warburg	I. 30	-55,3	+79,6		-15,6	+22,9		
	II. 30	-17,8	+36,8		-5,	+10,3		
	III. 30	-11,7	+28,8		-3,3	+8,1		

ersten Zeit, welche nur für Temperatúrausgleichung gebraucht wird, von der Ringerlösung in den Gasraum ausgetrieben und allmählich wieder reabsorbiert worden sein.

Diese Vermutung konnte experimentell bestätigt werden (Tabelle 5).

Die ausführliche experimentelle Anwendung unserer Rechnungsformeln wird in einer späteren Mitteilung angegeben werden.

ZUSAMMENFASSUNG.

Bei der manometrischen Messung der Gewebsatmung und -glykolyse in vitro, muss man, wenn das Gewebe Ammoniakgas in den Gasraum austreibt, die Warburg'schen Rechnungsformeln

TABELLE V.

NH₃-Menge im Gasraum des Atemgefäßes nach verschiedener
Atmungsdauer des Markgewebes der Kaninchenniere.

Datum	NH ₃ -Menge (mg) in (Minuten)			
	I. 15	II. 30	III. 30	IV. 30
31/X 1932	0,077		0,012	
2/XI 1932	0,098	0,003	0,001	
4/XI 1932	0,201		0,11	0,146

korrigieren. Wir haben Formeln vorgeschlagen, welche die Berechnung der Atmung und der Glykolyse bei der Entstehung des Ammoniakgases mittels der manometrischen Methode ermöglichen.

Die maximale Spannung und Menge des Ammoniakgases im Gasraum, unter welcher man das Gas bei dem Versuch vernachlässigen kann, wurde bestimmt.

Formeln (F) wurden angegeben, mittels welcher man diese Grenzmenge manometrisch bestimmen kann.

Als Beispiel der Anwendung wurde ein Versuch am Nierenmark des Kaninchens ausgeführt, bei welchem die Resultate nach den Warburg'schen Formeln und unseren Modifikationen verglichen wurden.

LITERATUR.

- Folin, O. (1932): J. of biol. Chem., **97**, 141.
 Halter, K. (1932): Biochem. Z., **257**, 313.
 Lee, O. and Tashiro, S. (1922): Amer. J. Physiol., **61**, 244.
 Okabe, T. (1934): Reports from the Institute of Physiology, Kumamoto Medical College, 1934, no. 1.
 Pincussen, L. (1930): Mikromethodik, 5. Aufl. 51.
 Roscoe und Dittmar, und Sims, Chemikerkalender (1931): II/III, 257.
 Tashiro, S. (1922): Amer. J. Physiol., **60**, 519.
 Warburg, O. (1924): Biochem. Z., **152**, 51.
 Warburg, O. (1923): Ibid., **142**, 317.
 Winterstein, H. und Hirschberg, E. (1925): Ibid., **156**, 138.

THE EFFECT OF ADRENALIN ON THE LIVER GLYCOGEN IN ADRENALECTOMIZED RABBITS.

BY

DR. JUNITI ASaeda AND DR. PAUL T. SHEN.

*(From the Department of Medicine, Nagasaki Medical College, Nagasaki,
Japan. Director: Prof. S. Tsunoo, M.D.)*

(Received for publication, December 20, 1933)

It is a commonplace in physiology that adrenalin causes hyperglycemia and decreases liver glycogen in the early period of its action. And the prevalent view has attributed this hyperglycemic action of adrenalin to the mobilization of glycogen in the liver, though Cori and Cori (1928) expressed their revolutionary idea that the decreased utilization of sugar by the muscles, and not the increased hepatic glycogenolysis, is responsible for the hyperglycemia caused by adrenalin. Indeed, the facts of the experiments show that not only the animals well-fed with loaded liver, but also those in which the liver glycogen has been reduced to a minimum by prolonged fasting produce hyperglycemia after suitable doses of adrenalin injection. Pollak (1909) observed, moreover, that in animals which have so fasted adrenalin caused not only hyperglycemia, but a concurrent storage of glycogen in the liver, and this observation has been confirmed by several later observers. Thus, adrenalin must be regarded as having a reversible action, so far as glycogen metabolism is concerned, causing glycogen to be deposited in the liver when very little or none is there and to be broken down when abundance is already present; but none of the investigators was able to offer an explanation for this seemingly paradoxical phenomenon.

Matsui and Inoue (1930) worked on the same line, but they controlled the time factor in a more satisfactory manner so that it was possible to demonstrate in adrenalin treated fasted rabbits that following the injection of adrenalin there is an initial period

in which hyperglycemia develops and the liver and muscle glycogen diminish, whereas in the later hypoglycemic phase of the action of adrenalin a marked deposition of liver and muscle glycogen is brought about. These authors tried to explain this interesting fact by the assumption that hyperglycemia itself and the secondary action of adrenalin, that is, the accelerated secretion of insulin in response to adrenalin hyperglycemia, may play an important part in this new formation of glycogen. In order to give conclusive evidence to their suppositions many other types of experiments must be made.

So we thought that it might give some light in explaining the above mentioned effect of adrenalin, if we injected adrenalin into adrenalectomized animals, in which no adrenalin is secreted and insulin alone is dominant in its action on carbohydrate metabolism and investigated the effect of it on liver and muscle glycogen.

The present studies have been made on liver glycogen and blood sugar content in A. untreated, B. adrenalin injected adrenalectomized rabbits, though the muscle glycogen was studied only in a few cases.

Experimental methods.

Normal healthy adult male rabbits weighing 2 to 3 kilos were used in the experiments. All animals were kept on the routine diet for several days in our laboratory before they were used. Before the operation, the animals were not fed for 24 hours. Blood samples, for the blood sugar determinations, were taken from the marginal ear vein, before the operation and hourly afterwards. The blood sugar determinations were made according to the method of Bang, and determinations of liver and muscle glycogen were made according to a modification of Pflüger's method by Iwasaki and Mori. Double adrenalectomy was performed at one stage per laparotomiam, Peiper (1924), without using any anaesthetics. The animals were kept warm in a well ventilated wooden box after the operation. The insufficiency symptoms were allowed to develop but the animals were watched constantly so that the tissues for analysis might be taken im-

mediately after death. Samples were taken only from those operated on animals which showed pronounced insufficiency symptoms, an indication of a thorough operation as necropsy confirmed it, though sometimes they survived over a whole day. Animals living more than 24 hours after adrenalectomy and still behaving in a lively way were not used. In the second series of experiments, adrenalin was injected hypodermically as soon as the blood sugar content fell below the normal level; a few more injections were repeated according to the duration of the hyperglycemic action of adrenalin noted in each case. The adrenalin was in dilution 1:1000, and 0.3 cc. of it was given per kilo body weight of the animal.

Experimental results.

A. Table I. shows the results of the investigations of blood sugar content, liver and muscle glycogen on five adrenalectomized rabbits before and after adrenalectomy. The sample of liver for control examination was removed by cauterization from the right lobe; the muscle was taken from a part of *M. quadriceps femoris*. The animals died 3-4 hours after the operation and the terminal blood sugar content sometimes still showed a marked hyperglycaemia owing to the operation.

The average value of liver glycogen before adrenalectomy was 1.75%, while that after falls to 1.26%, a considerable diminution. Only in No. 1 rabbit it even increased a little. The muscle glycogen showed a diminution of only a slight degree, that is 0.92% before and 0.78% after the adrenalectomy respectively. Since it took considerable time to take the specimens for analysis of liver and muscle as control before the adrenalectomy and since it shortens the survival period of the animals, and they died before hypoglycemia was manifested, we abandoned taking the control specimens in the following experiments.

Table II. shows the results of the same type of experiments only without taking any tissues for control examinations. Nine experiments were made. The terminal blood sugar contents were all below the normal level, an average of 0.57%; some of them died

TABLE I.
Investigations of blood sugar content, liver and muscle glycogen on
adrenalectomized rabbits before and after operation.

Date	Number	Body Weight	Blood sugar content (mg%)				Weight of liver g	Glycogen (g%)				
			Before operation	After Operation (hrs)				Liver		Muscle		
				1	2	3		4	Before operation	After	Before operation	After
19/IX 1932	1	2,100	111	178	178	150	155	40.5	1.93	2.17	0.87	0.76
24/IX	2	2,440	115	147	94	84		47.5	2.29	1.81	1.09	0.89
24/IX	3	2,415	104	176	131	118		50.5	1.93	1.09	0.81	0.70
26/IX	4	2,070	125	152	185	186		47.0	1.16	0.74		
26/IX	5	2,240	144	186	135	89	89	39.0	1.58	0.51		
Average									1.75	1.26	0.92	0.78

in convulsions. The average percentage of the liver glycogen after adrenalectomy was 0.81%. Taking the value 1.75% from Table I. as normal, 0.81% is only about half of that amount, a marked decrease.

It is apparent from our own experiments that progressively severe reductions in blood sugar and liver glycogen levels occur in adrenalectomized, untreated animals.

Experiments of this type, using the adrenalectomized animals of different species, have been made by many authors. Most of them are in favour of the decrease in blood sugar and liver glycogen content.

The literature will be cited in the following.

Schwarz (1908) experimented on rats; the liver glycogen content decreased after the double adrenalectomy. Porges (1910) reported that several hours after the bilateral adrenalectomy in dogs the blood sugar falls below normal level and liver glycogen is greatly decreased. Kahn and Starkenstein (1911) confirmed Schwarz's work on rats and dogs but not on rabbits. Mackenzie (1917) administered large quantities of glucose intravenously and by the alimentary tract to adrenalectomized dogs, and have found that little or no glycogen is demonstrable in the liver cells. Kuriyama (1918) has made a number of observations on rats, and has found that animals without adrenal glands show a significant disability in storing glycogen when compared with normal animals. The blood sugar of the operated animals was also somewhat lower than normal. Shiozawa's (1926) rats showed a decrease of liver glycogen comparing the normal after double adrenalectomy but not after only one gland was removed. Artundo (1927) has also recorded notable diminutions in blood sugar, and also in hepatic and muscle glycogen in bilaterally adrenalectomized rats. The changes did not appear to be constant. Cori and Cori (1927) reported that adrenalectomized rats and mice show an almost complete disappearance of liver glycogen when fasted for 24 hours, although the muscle glycogen is scarcely affected beyond that in similarly starved animals. A considerable fall in blood sugar correspondingly occurred in the operated on ones. Estrada (1927)

worked on 6 doubly adrenalectomized dogs; the glycogen of liver and heart diminished a great deal but not that of the muscle. Houssay and Mazocco (1927) found the glycogen content of adrenalectomized rats to be lower than that of a control group. Houssay and Artundo (1929) noted a diminution of liver glycogen in rats 2 weeks after adrenalectomy. Shiwa (1929) worked on dogs; the liver glycogen after unilateral adrenalectomy decreased as compared with the normal. Blood sugar and muscle glycogen did not show much change. Silvette and Britton (1932) operated on cats, and the adrenalectomized cats showing symptoms within 48 hours had only an average of 0.19% of liver glycogen, the muscle glycogen and blood sugar content being 0.35% and 0.48% respectively. Those showing symptoms in 2-6 days had only a trace of liver glycogen. The muscle glycogen showed only a slight diminution while the blood sugar content was reduced to a very low level. Sugimoto (1932) performed double adrenalectomy on rabbits in two stages. The control group received a dummy operation, two weeks after that, in which the liver glycogen was found to be 0.81%, and that of the muscle was 0.38%. The adrenalectomized ones only had a liver glycogen content of 0.34%, muscle glycogen 0.30%. Stewart and Rogoff (1918) and a few others considered from a few observations on rats and rabbits that the formation and storage of glycogen in the liver was not affected by removal of both adrenal glands. But recognition within recent years that such animals are sometimes well endowed with accessory tissues possibly explains in part some of the inconsistent findings and suggests that particular care must be taken in performing the operation.

Table III. shows the results of the investigations of blood sugar content, liver and muscle glycogen on adrenalectomized rabbits treated with adrenalin. The drug was injected as soon as the blood sugar content fell below normal after adrenalectomy. After the adrenalin injection, the animal revealed a hyperglycemia which lasted from 4 to 8 hours; the appearance also indicated much improvement. But a second injection usually produced a hyperglycemia of a much slighter degree. After that, the blood sugar

TABLE III.
Investigations of blood sugar content, liver and muscle glycogen on
adrenalectomized rabbits treated with adrenalin.

Blood sugar content (mg%)																																	
Date	Number	Kilos	Body weight	After operation (hrs)																				Adrenalin injected Single dose (1:1000) (cc)	Glycogen (g%)		Remarks						
				Before operation																			Liver		Muscle								
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19				20		21	22	23			
2/XI 1932		12.180	105	128	103	92	70	65	101	134	135		66		32	28	23	→	24									0.60	0.92	49	→	Adrenalin injected	
2/XI		22.010	114	138	126	107	73	49	132	180	213		140		61	43	117	117	118			38	29	→	32	23	21	0.60	0.75	44			
7/XI		31.870	99	123	101	106	89	78	73	72		61	57	146	173	187		56	93									0.56	1.09	0.69	56	↓	Convulsions set in
28/XI		42.460	102	125	116	97	86	61	68	124		138		147		93	64	55	63	64	55							0.72	0.91	0.70	59		
28/XI		52.680	118	150	113	80		77	47	85	→	100	→	83				→										0.78	0.79	1.02	68		
Average																									0.89		0.80						

content continued to fall; any more administration of adrenalin did not bring about recovery of animals which were in the terminal stages of insufficiency. The average liver glycogen in these adrenalin treated adrenalectomized animals was 0.89%; no difference could be seen from the results presented in Table II. The muscle glycogen did not show any diminution from the normal.

At the conclusion of this part of our studies the report of Britton and Silvette (1932) must be referred to here. These authors concluded from their results that adrenalin may bring about a slight temporary amelioration of the symptoms which supervene after double adrenalectomy at one stage. They saw only a slightly higher level of liver glycogen than those in the untreated series showing insufficiency symptoms. The muscle glycogen levels were observed to be somewhat higher than in the untreated cases.

We have found from our own experiments, as well as those made by other authors, that the blood sugar content ranges considerably below normal and that the liver glycogen decreases, though by no means disappearing completely in adrenalectomized rabbits. Here it is important to emphasize the point that this decreased glycogen has not been mobilized to raise the low blood sugar content after the operation. But when adrenalin was given subcutaneously after double adrenalectomy the survival period of the operated on animals became longer than those without injection and usually a marked adrenalin hyperglycemia could be observed, and yet the liver glycogen content of these adrenalin treated rabbits was about the same amount as that of untreated ones. From this we may conclude that the rate of glyconeogenesis in the adrenalin treated adrenalectomized rabbits must be higher than in those without adrenalin administration, though in those rabbits too, some glyconeogenesis may still occur. And to this fact, the explanation which was given by Matsui and Inoue in their studies about the effect of adrenalin in accelerating the new formation of liver glycogen, can also to a certain extent be applied.

Matsui (1931) discussed in his work the peripheral blood sugar regulation saying that the blood sugar itself is a suitable

stimulus (adäquater Reiz) for the formation or breakdown of the liver glycogen. If this is true, it would seem very strange, that the low blood sugar content of these adrenalectomized rabbits has not stimulated the glycogenolysis as we have pointed out above. But even as Matsui said that the low blood sugar content may stimulate the glycogenolysis on one hand, we must take into consideration that on the other hand there must be some glycogenesis going on at the same time; therefore, an appreciable amount of liver glycogen present after double adrenalectomy does not necessarily contradict his view. Anyhow the carbohydrate metabolism after adrenalectomy is really complicated, especially when we recall that the adrenal cortex, which contains some kind of hormone, is supposed to be very important in the metabolism of liver glycogen. So the full explanation of our results must wait for further investigation.

SUMMARY.

1. Bilaterally adrenalectomized rabbits were observed to suffer progressively severe derangements in carbohydrate metabolism following the operation. Blood sugar and liver glycogen were chiefly affected; these showed a marked reduction from the normal levels. Muscle glycogen was also diminished slightly.

2. The administration of adrenalin to animals with symptoms of adrenal insufficiency produces an increase in the amount of blood sugar and improves the general appearance of the animal only for a very short duration. The liver and muscle glycogen were found to be almost the same as in untreated adrenalectomized animals.

LITERATURE.

- Artundo, A. (1927): *Compt. rend. Soc. de Biol.*, **97**, 411.
Cori, C. F. and Cori, G. T. (1927/28): *Jour. Biol. Chem.*, **74**, 473; **79**, 309, 321, 343.
Estrada, P. (1927): *Compt. rend. Soc. de Biol.*, **97**, 899.
Houssay and Mazacco (1927): *Ibid.*, 1252.
Houssay, B. A. and Artundo, A. (1927): *Ibid.*, **100**, 127.
Iwasaki and Mori: *Suto's Biochemisches Praktikum* 10 edit. Tokio.

- Kahn, R. H. and Starkenstein, E. (1911): *Pflüger's Archiv*, **139**, 181.
- Kuriyama, S. (1918): *Journ. Biol. Chem.*, **34**, 287.
- Mackenzie, G. M. (1917): *Arch. Int. Med.*, **19**, 593.
- Matsui, K. and Inoue, T. (1930): *Nagasaki Igakkai Zasshi*, **8**, 1178.
- Matsui, K. (1931): *Ibid.* **9**, 1.
- Peiper, H. (1924): *Handb. d. biolog. Arbeitsmethoden von Abderhalden*, Abt. **5**, T. 3 B, H. 2, 149.
- Pollak, L. (1909): *Arch. f. exp. Patholog. u. Pharmakolog.*, **61**, 149.
- Porges, O. (1910): *Zeitschr. f. klin. Med.*, **70**, 243.
- Schwarz, O. (1908): *Pflüger's Archiv*, **124**, 353.
- Shiozawa, S. (1926): *Jap. Journ. Experiment. Med.*, **10**, 128.
- Shiwa, N. (1929): *Okayama Igakkai Zasshi*, **41**, Oct.
- Silvette, H. and Britton, S. W. (1932): *Amer. Journ. Physiol.*, **100**, 693, 701.
- Stewart, G. N. and Rogoff, J. M. (1918): *Amer. Journ. Physiol.*, **46**, 90.
- Sugimoto, S. (1932): *Fol. Endocrinol. Jap.*, **8**, 169.

ÜBER DIE BEZIEHUNG ZWISCHEN DER HARN- REAKTION UND DER MAGENACIDITÄT UNTER DEM EINFLUSS DER GALLENSÄURE. (I).

Einfluss der Gallensäure auf die Ausscheidung des Kochsalzes, Kaliums und Natriums im Harn.

VON

TAKURŌ HASEGAWA.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut, Okayama,
Vorstand: Prof. Dr. T. Shimizu.)

(Eingegangen am 20. December 1933)

Es ist bekannt, dass die Bildung der Salzsäure im Magen das Zurückbleiben einer äquivalenten Menge Alkali im Körper bewirkt, das sich zu Alkalicarbonaten oder Alkaliphosphaten umsetzt, welche bei der vermehrten Bildung der Salzsäure im Magen durch die Exkretionsorgane ausgeschieden werden, so dass dadurch die Neutralität des Blutes aufrecht erhalten werden kann. So ist die Acidität des Harns das Spiegelbild der Acidität des Magensaftes. Die Salzsäure im Magen wird bekanntlich aus Kochsalz gebildet. Somit muss die Acidität des Magensaftes mit dem Kochsalzgehalt des Harns in engem Zusammenhang stehen.

Nach den Untersuchungen von Ito (1930, 1931, 1932) spielt die Gallensäure im Organismus bei der Regulation der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes und der Galle eine grosse Rolle, indem die Alkalireserve und der PH-Wert des Blutes und der Galle durch überschüssige Zufuhr von Gallensäure erhöht wird. Auch Kuramoto (1933) hat bei Hunden mit Thiry-Vellascher Fistel des Darmes gefunden, dass der PH-Wert und die Alkalireserve des Darmsaftes durch Zufuhr von Cholsäure erhöht, und sogar der PH-Wert des Harns dadurch gesteigert wird. Ebenso hat Fuziwara (1931) gefunden, dass das sekundäre Phosphat des Harns bei Kaninchen durch Zufuhr von Cholsäure vermehrt wird.

Im oben angeführten Sinne ist es von Bedeutung, den Gehalt

der Alkalien, Na u. K und des Kochsalzes im Harn unter Zufuhr von Cholsäure zu untersuchen, um die Beziehung zwischen der Salzsäurebildung im Magensaft und der Reaktion des Harns unter dem Einfluss der Gallensäure klarzustellen.

EXPERIMENTELLER TEIL.

Zum Versuch wurden kräftige weibliche Hündinnen gebraucht, die vor dem Versuch wenigstens eine Woche lang mit einer bestimmten Nahrung gefüttert worden waren. Die Nahrung bestand aus Reis, Fischchen, Gemüse, Sojasuppe und Wasser.

Zwecks leichter Katheterisierung des Harns wurde durch Operation unter dem Schnitt die hintere Scheidewand entblösst.

Die Versuche wurden in 3 Perioden, Vor- Nach- und Versuchsperiode, geteilt. In der Versuchsperiode wurde den Hündinnen 1ccm einer 1%igen oder 2%igen Na-Cholatlösung pro Kilo intravenös eingeführt und ihr Einfluss auf die tägliche Ausscheidung des Kochsalzes, des Kaliums und des Natriums im Harn untersucht.

Die Bestimmung des Kochsalzes wurde nach Volhard und die des Kaliums u. Natriums nach Kramer u. Tisdall (1921) ausgeführt.

Die Resultate sind in den folgenden Tabellen I-IV zusammengestellt.

Aus den Tabellen I-IV lässt sich ersehen, dass der Kochsalzgehalt des Harns bei Zufuhr von Cholsäure im Vergleich zu dem der Vorperiode der absoluten Menge nach durchschnittlich um 1,07–9,35% vermindert wird, während er prozentual entweder um 1,25–1,27% vermehrt oder um 4,84–7,82% vermindert wird.

Die Ausscheidung des Kochsalzes im Harn wird also durch Zufuhr von Cholsäure im allgemeinen sowohl absolut als auch prozentual vermindert, obwohl dabei die Harnmenge im Vergleich zu derjenigen der Vorperiode vermindert ist.

Der Gehalt des Natriums im Harn bei Zufuhr von Cholsäure wird, verglichen mit dem der Vorperiode, durchschnittlich der absoluten Menge nach um 8,46–11,56%, prozentual um 4,38–19,89% vermehrt, während der des Kaliums dadurch gerade umgekehrt

TABELLE I. (Hund B 11 kg.)

Nahrung; Reis 170 g, Fisch 40 g, Gemüse 80 g, Sojasuppe 20 g u. Wasser 1000 g.

Datum	Harn- menge cem	Spez. Gew.	Reaktion	NaCl		Na		K		Bemerkungen
				g	%	g	%	g	%	
13./VII	575	1010	sauer	7,200	1,2322	6,9720	1,2125	1,5105	0,2627	
14/ "	555	1012	"	7,050	1,2703	5,7244	1,0307	1,1831	0,2132	
15/ "	580	1009	"	7,400	1,2759	5,4524	0,9401	1,3901	0,2551	1%ige
16/ "	565	1010	"	7,300	1,2920	6,1082	1,0811	1,1961	0,2117	Na-Cholatlös.
17/ "	520	1015	"	6,700	1,2885	6,6464	1,2782	1,1193	0,2153	← 1,0 cem
18/ "	530	1010	"	7,000	1,2500	6,2216	1,1110	1,1984	0,2140	pro Kilo.
19/ "	510	1014	"	6,600	1,2941	6,0492	1,1831	1,1808	0,2315	
20/ "	540	1008	"	6,600	1,2222	5,9439	1,1007	1,1911	0,2206	

TABELLE II. (Hund D 11 kg.)

Nahrung; Reis 150 g, Fisch 40 g, Gemüse 80 g, Sojasuppe 20 g u. Wasser 1000 g.

Datum	Harn- menge cem	Spez. Gew.	Reaktion	NaCl		Na		K		Bemerkungen
				g	%	g	%	g	%	
23/X	515	1013	neutral	5,350	1,0388	1,9347	0,3745	0,8940	0,0687	
24/ "	510	"	"	5,300	1,0392	1,8274	0,3527	0,7734	0,0662	
25/ "	545	1012	"	5,500	1,0092	2,0420	0,3789	0,8058	0,0582	1%ige
26/ "	720	"	"	5,950	0,8264	1,8276	0,2583	0,8720	0,0469	Na-Cholatlös.
27/ "	540	1013	"	5,150	0,9537	2,0645	0,3770	0,7690	0,0574	1,0 cem
28/ "	685	1012	"	5,850	0,8540	2,1661	0,3290	0,8242	0,0507	pro Kilo.
29/ "	600	1013	"	5,400	0,9000	2,1548	0,3657	0,7654	0,0577	
30/ "	670	1010	"	5,650	0,9912	1,8840	0,2787	0,8040	0,0433	
31/ "	600	1013	"	5,550	0,9250	1,9160	0,3193	0,8352	0,0553	

TABELLE III. (Hund B 11 kg)

Nahrung; Reis 170 g, Fisch 40 g, Gemüse 80 g, Sojasuppe 20 g u. Wasser 1000 g.

Datum	Harn- menge ccm	Spez. Gew.	Reaktion	NaCl		Na		K		Bemerkungen
				g	%	g	%	g	%	
13/VIII	575	1010	sauer	7,200	1,2522	2,7428	0,4770	0,7923	0,1378	
14/ "	555	1012	"	7,050	1,2702	2,2526	0,4059	0,6199	0,1117	
15/ "	580	1009	"	7,400	1,2759	2,1450	0,3698	0,7291	0,1257	
16/ "	565	1010	"	7,300	1,2920	2,4030	0,4253	0,6274	0,1110	1%ige Na-Cholatös.
17/ "	520	1015	"	6,700	1,2885	2,5877	0,4933	0,6133	0,1179	← 1 ecm
18/ "	560	1010	"	7,000	1,2500	2,4395	0,4410	0,6306	0,1126	pro Kilo.
19/ "	510	1014	"	6,600	1,2941	2,3738	0,4566	0,6193	0,1214	
20/ "	540	1008	"	6,600	1,2222	2,3083	0,4275	0,6219	0,1182	

TABELLE IV. (Hund C 9 kg)

Nahrung; Reis 120 g, Fisch 40 g, Sojasuppe 15 g u. Wasser 900 g.

Datum	Harn- menge ccm	Spez. Gew.	Reaktion	NaCl		Na		K		Bemerkungen
				g	%	g	%	g	%	
12/IX	600	1012	neutral	5,400	0,8930	2,0753	0,3430	0,3748	0,0620	
13/ "	"	1011	"	5,300	0,8670	2,0123	0,3354	0,4142	0,0690	
14/ "	"	"	"	5,400	0,9000	2,0438	0,3406	0,4536	0,0756	2%ige Na-Cholatös.
15/ "	620	"	"	5,300	0,8548	2,0083	0,3239	0,3016	0,0486	← 1 ecm
16/ "	590	1012	"	4,850	0,8362	2,2084	0,3808	0,3547	0,0512	pro Kilo.
17/ "	630	"	"	5,400	0,8571	2,3664	0,3756	0,4561	0,0727	
18/ "	620	"	"	5,450	0,8742	2,0254	0,3267	0,4734	0,0754	

durchschnittlich der absoluten Menge nach um 5,71–15,20% und prozentual um 2,96–9,31% vermindert wird.

Nach Sekitoo (1929) soll die Natrium- sowie Chlorausscheidung im Harn durch Zufuhr von Cholsäure nicht besonders verändert werden, während die Kaliumausscheidung im Harn zu einer Verminderung neigt.

Aus diesen Daten scheint mir hervorzugehen, dass die vermehrte Salzsäurebildung eine Verminderung der Kochsalzausscheidung und eine Vermehrung der Alkalienscheidung zur Folge hat, wie es bei der Kalkausscheidung der Fall war. Darauf beruht höchstwahrscheinlich der erhöhte PH-Wert des Harns bei Zufuhr von Cholsäure, wie ihn Kuramoto (1933) in seinem Versuch beobachtet hat.

Die Verminderung des Kaliums im Harn bei Zufuhr von Cholsäure weist darauf hin, dass die Cholsäure auf die Organe nicht zerstörend einwirkt.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die Kochsalzausscheidung im Harn der Hündin wird durch Zufuhr von Cholsäure herabgesetzt.

2. Die Natriumausscheidung im Harn wird durch Zufuhr von Cholsäure vermehrt, während die Kaliumausscheidung durch sie vermindert wird.

LITERATUR.

- Fuziwara, K. (1931): *Jl. of Bioch.*, **13**, 43.
Ito, T. (1930): *Arb. Med. Univ. Okayama*, **2**, 103.
" (1931): " " **2**, 572.
" (1932): *Bioch. Zschr.*, **254**, 50.
Kramer u. Tisdall (1921): *Jl. of Biol. Chem.*, **48**, 223.
Kuramoto, T. (1933): *Jl. of Bioch.*, **19**, 245.
Sekitoo, T. (1929): *Jl. of Bioch.*, **11**, 251.

DIE BEDEUTUNG DER GALLENSÄURE IM KOHLEHYDRATSTOFFWECHSEL. XXIX.

Die Zuckerausscheidungsschwelle unter dem Einfluss der Cholsäure und der Milz.

VON

CHIKARA TATEISHI.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut, Okayama, Vorstand:
Prof. Dr. T. Shimizu.)

(Eingegangen am 20. Dezember 1933)

Wie allgemein bekannt, dauert bei der Herabsetzung der Kohlehydratassimilation im Organismus die alimentäre Hyperglykämie unter Verstärkung lange an, was eine Glykosurie zur Folge hat. Nach Sakaguchi (1925) u. Nakayama (1924/25) soll bei Diabetikern die Zuckerausscheidungsschwelle erhöht werden, indem die Zuckerassimilation im Körper herabgesetzt ist.

Es ist auch bekannt, dass die Zuckerausscheidungsschwelle durch das innersekretorische Hormon und durch vegetative Nervengifte stark beeinflusst wird, wiewohl erstere Sekretion mit der Funktion des vegetativen Nervensystems in innigem Zusammenhang steht. So haben Nakayama (1924/25), Shim (1925) u. Yokota (1932) bei Adrenalin, Kawashima (1927) bei Thyroxin, Eda (1927) bei Insulin, Eda (1927) Kawashima (1928) bei vegetativen Nervengiften und Hildebrandt (1921), Nakayama (1924/25), Shim (1925), u. Kawashima (1928), Kawashima u. Iwanaga (1930) bei vegetativer Neurotomie gefunden, dass die Z.A.S. durch ein den Sympathicus erregendes Hormon oder Gift und durch Splanchnikotomie erhöht wird, während sie durch ein den Vagus erregendes Hormon oder Gift und durch Vagotomie herabgesetzt wird.

In diesem Sinne ist es von Bedeutung, den Einfluss der Gallensäure auf die Z.A.S. zu untersuchen, da diese hypoglykämisch und glykosurieherabsetzend wirkt, wie (Misaki 1929, Murakami

1928, Okamura 1928, Taku 1929, Fuzita 1930 und Chikamori 1930 Yuuki 1932) bewiesen haben, dagegen nach Tsuji (1930) und Sekitoo (1929, 1930) den Vagus reizt und den Sympathicus lähmt.

Seit Togawa 1920, Noma 1925/26, Marx 1930, Fuziwara 1932/33, Lauda 1932) wissen wir, dass die Milz mit dem Kohlehydratstoffwechsel in innigem Zusammenhang steht, indem die alimentäre Hyperglykämie durch Splenektomie längerer Dauer verstärkt und durch Zufuhr von Milzextrakt mit od. ohne Cholsäure wieder herabgesetzt wird, während Adrenalinhyperglykämie durch Zufuhr von Cholsäure verstärkt, aber durch Mitzufuhr von Milzextrakt herabgesetzt wird. Nach Tanaka (1933) soll der vagische Nerv durch Splenektomie erregt werden, indem die Gallensäureausscheidung in der Galle sich vermehrt.

Die Funktionen der Leber und der Milz sind für die Regulation des Kohlehydratstoffwechsels miteinander eng verknüpft, weil die in der Leber zu bildende Gallensäureausscheidung durch das Milzhormon stark beeinflusst wird.

In diesem Sinne habe ich weiter den Einfluss der Milz und Cholsäure auf die Z.A.S. untersucht. Die Resultate sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

EXPERIMENTELLER TEIL.

Zum Versuch wurden kräftige, männliche Kaninchen verwendet, die wenigstens eine Woche lang mit einer bestimmten Menge von Okara und Gemüse gefüttert worden waren.

Nachdem der nüchterne Blutzucker (24 Stunden) bestimmt, und Harnzucker als nicht vorhanden festgestellt worden war, habe ich 1,5–3,0 g Traubenzucker pro Kilo in verschiedener Menge Wasser 100–70–50 ccm gelöst, mittels Katheter in den Magen eingeführt und im Intervall von $\frac{1}{2}$, 1, $1\frac{1}{2}$, 2 u. 3 Stunden fortlaufend den Blutzucker und Harnzucker bestimmt. Die zu verabreichende Zuckermenge wurde in der Weise ausgewählt, dass bei maximalem prozentualen Zuckergehalt im Blut eine Spur von Zucker im Harn nachweisbar sein konnte, oder die Zuckerausscheidungsschwelle wurde so gewählt, dass sie beim Auftreten des Zuckers im Harn

den maximalen prozentualen Zuckergehalt des Blutes bedeutete.

Nachdem man die Z.A.S. eines normalen Kaninchens festgestellt hatte, wurden demselben Kaninchen 2–3 ccm einer 1%igen Na-Cholatlösung unter gleichzeitiger Zufuhr von Zucker subcutan, od. 3 ccm einer 10%igen Cholatlösung mit Zucker gleichzeitig peroral gegeben. Jeder einzelne Versuch wurde im Intervall von 4–5 Tagen ausgeführt, und während dieses Intervalls wurde immer dieselbe Nahrung wie zuvor verfüttert.

Beim Versuch über den Einfluss der Milz wurde zuerst die Z.A.S. des Kaninchens bestimmt, und dann wurde demselben Kaninchen die Milz entnommen. 3–5 Tage nach der Operation, als die Kaninchen sich von der Wunde erholt hatten, wurde die Z.A.S. bestimmt, und nach dreitägiger Pause wurde nach peroraler Belastung mit derselben Menge von Zucker der ganze Milzextrakt desselben Kaninchens subkutan verabreicht, und die Z.A.S. in gleicher Weise wie zuvor bestimmt.

Nach nochmaliger dreitägiger Pause wurde die Z.A.S. dieses splenektomierten Kaninchens unter subcutaner Zufuhr von 3 ccm einer 1%igen Cholatlösung pro Kilo bestimmt. Endlich wurde nach nochmals 3 Tagen die Z.A.S. des splenektomierten Kaninchen unter alleiniger Zuckerzufuhr bestimmt, um die Nachwirkung der Cholsäure auf die Z.A.S. zu prüfen.

Der Milzextrakt wurde aus der ganzen Milz desselben Kaninchens nach Fuziware(1932) bereitet, auf 3–5 ccm eingengt und auf einmal zum Versuch verwendet.

Der Blutzucker wurde nach Hagedorn-Jensen und der Harnzucker nach Bertrand bestimmt.

1. *Der Einfluss der Cholsäure auf die Z.A.S. des normalen Kaninchens.*

Aus den Tabellen I–VII ist ersichtlich, dass die Z.A.S. des normalen Kaninchens 0,22–0,29% beträgt, während sie bei subcutaner Zufuhr von 2 ccm einer 1%igen Cholatlösung 0,23–0,27% und bei der von 3 ccm derselben Lösung auch 0,22–0,27% beträgt. Die Z.A.S. bei Zufuhr von Cholsäure ist im Vergleich mit der Kontrolle in allen Fällen kleiner, und bei Zufuhr von 3 ccm ist

VERSUCH I.

Dat.	K.G.	Harnmenge nach Stunden cem			Blutzucker % (Harnzucker %)					Z.A.S.	Bemerkungen	
		vor				nach Stunden						
		1	2	3	1/2	1	1 1/2	2	3	%		
28/VI	2190	3	8	13	0,108 (—)	0,228	0,296 (Spur)	0,318	0,338 (1,73)	0,308 (0,28)	0,29	
18/VIII	2140	10	22	12	0,102 (—)	0,251	0,275 (Spur)	0,294	0,265 (Spur)	0,172 (—)	0,29	
5/VII	2180	5	16	7	0,105 (—)	0,232	0,278 (0,18)	0,306	0,308 (0,65)	0,258 (Spur)	0,27	Cholatös. ← 2 cem subcutan
19/ "	2170	3	12	7	0,121 (—)	0,202	0,221 (Spur)	0,252	0,258 (Spur)	0,175 (—)	0,26	← 3 cem subcutan
31/VIII	2180	7	12	10	0,118 (—)	0,247	0,295 (0,10)	0,316	0,301 (0,14)	0,221 (—)	0,29	← per os.

VERSUCH II.

Dat.	K.G.	Harnmenge nach Stunden cem			Blutzucker % (Harnzucker %)					Z.A.S.	Bemerkungen	
		1	2	3	vor	nach Stunden						
						1/2	1	1 1/2	2	3		
22/VI	2860	8	10	14	0,109	0,201 (—)	0,233 (—)	0,251	0,291 (0,15)	0,311 (0,19)	0,29	
29/ "	2850	10	13	10	0,102	0,221	0,274 (0,29)	0,316	0,323 (0,22)	0,290 (0,21)	0,27	
8/XI	2900	6	8	12	0,091	0,180	0,254 (Spur)	0,273	0,288 (Spur)	0,266 (Spur)	0,28	
24/VII	2780	16	22	9	0,109	0,221	0,265 (Spur)	0,269	0,259 (Spur)	0,247 (—)	0,27	Cholatlös. ← 2 cem subcutan
22/ "	2890	5	17	12	0,095	0,162	0,221 (—)	0,241	0,243 (—)	0,229 (—)	0,24	← 3 cem subcutan
14/VIII	2850	5	19	17	0,105	0,208	0,254 (Spur)	0,269	0,277 (Spur)	0,252 (Spur)	0,27	← 3 cem subcutan
24/IX	2720	7	9	6	0,112	0,186	0,254 (0,27)	0,264	0,277 (0,46)	0,236 (Spur)	0,25	← per os.

VERSUCH III.

Dat.	K.G.	Harnmenge nach Stunden ccm			vor	Blutzucker % (Harnzucker ‰)					Z.A.S.	Bemerkungen
		1	2	3		nach Stunden						
						1½	1	1½	2	3		
23/VIII	2310	6	11	3	0,104	0,190	0,221 (—)	0,250	0,262 (Spur)	0,240 (0,49)	0,26	
18/IX	2310	5	13	15	0,103	0,235	0,253 (0,39)	0,251	0,263 (0,20)	0,233 (Spur)	0,25	Cholatiös. + 2 ccm subcutan
27/ "	2240	6	10	7	0,098	0,208	0,241 (Spur)	0,239	0,223 (—)	0,185 (—)	0,24	+ 3 ccm subcutan
29/ "	2240	6	8	12	0,100	0,223	0,286 (0,45)	0,305	0,300 (0,65)	0,280 (Spur)	0,28	

VERSUCH IV.

Dat.	Dat.	Harnmenge nach Stunden ccm			vor	Blutzucker % (Harnzucker ‰)					Z.A.S.	Bemerkungen
		1	2	3		nach Stunden						
						½	1	1½	2	3		
7/IX	1810	6	40	26	0,102	0,244	0,264 (Spur)	0,263	0,234 (Spur)	0,140 (—)	0,26	
14/ "	1860	2	20	19	0,094	0,167	0,232 (1,24)	0,269	0,269 (0,81)	0,212 (Spur)	0,23	Cholatiös. ← 2 ccm subcutan
17/ "	1810	8	14	18	0,086	0,184	0,224 (0,46)	0,228	0,230 (Spur)	0,140 (Spur)	0,22	← 3 ccm subcutan
21/ "	1810	3	15	15	0,094	0,175	0,231 (0,24)	0,227	0,215 (Spur)	0,152 (—)	0,23	← per os.

VERSUCH V.

Dat.	K.G.	Harnmenge nach Stunden ccm			Blutzucker % (Harnzucker %)							Z.A.S.	Bemerkungen
					vor	nach Stunden							
		1	2	3		1½	1	1½	2	3	%		
8/IX	2000	9	25	15	0,114	0,177	0,228 (Spur)	0,246	0,258 (Spur)	0,198 (-)	0,25	Cholatlös. + 2 ccm subcutan + 3 ccm subcutan	
13/ "	2000	11	13	24	0,105	0,176	0,218 (Spur)	0,223	0,227 (Spur)	0,202	0,23		
18/ "	2000	15	25	24	0,107	0,186	0,239 (Spur)	0,267	0,235 (Spur)	0,230 (Spur)	0,23		

VERSUCH VI.

Dat.	K.G.	Harnmenge nach Stunden ccm			vor	Blutzucker % (Harnzucker %)				Z.A.S.	Bemerkungen	
		1 ^h	2	3		nach Stunden						
						1 ¹ / ₂	1	1 ¹ / ₂	3	3		
8/VIII	2180	5	10	20	0,112	0,193 (Spur)	0,265 (Spur)	0,290	0,298 (1,62)	0,288 (0,90)	0,26	
9/IX	2130	7	18	29	0,130	0,236	0,269 (Spur)	0,257	0,242 (—)	0,154 (—)	0,27	
15/VIII	2140	5	18	12	0,108	0,205	0,249 (Spur)	0,265	0,277 (0,60)	0,242 (0,28)	0,25	Cholatlös. + 2 ccm subcutan
25/ „	2190	6	14	11	0,084	0,191	0,244 (Spur)	0,253	0,268 (0,24)	0,252 (0,11)	0,24	+ 3 ccm subcutan
30/ „	2180	5	6	9	0,129	0,257	0,235 (Spur)	0,269	0,255 (Spur)	0,189 (—)	0,26	

Cholatlös.
← 2 ccm subcutan
← 3 ccm subcutan

Cholatlös.
← 2 ccm subcutan
← 3 ccm subcutan

VERSUCH VII.

K.G.	K.G.	Harnmenge nach Stunden eem			Blutzucker % (Harnzucker %)					Z.A.S.		Bemerkungen
		1	2	3	vor	$\frac{1}{2}$	1	$1\frac{1}{2}$	2	3	%	
26/VI	2130	8	6	6	0,097	0,154	0,232 (-)	0,247	0,270 (0,45)	0,298 (1,10)	0,27	
26/VII	2120	6	14	16	0,103	0,168	0,228 (-)	0,256	0,268 (Spur)	0,268 (Spur)	0,26	
20/VIII	2140	12	15	10	0,107	0,204	0,221 (Spur)	0,228	0,182 (-)	0,144 (-)	0,22	
8/VII	2200	10	14	10	0,098	0,182	0,235 (-)	0,262	0,258 (0,24)	0,218 (-)	0,26	Cholatlös. + 2 eem subcutan
13/VIII	2150	5	4	7	0,096	0,152	0,189 (-)	0,208	0,210 (Spur)	0,243 (Spur)	0,24	+ 2 eem subcutan
5/ "	2170	7	10	2	0,107	0,171	0,192 (-)	0,213	0,218 (Spur)	0,236 (Spur)	0,23	+ 3 eem subcutan
27/ "	2150	4	6	14	0,089	0,181	0,207 (Spur)	0,207	0,225 (Spur)	0,192 (-)	0,22	+ per os.

sie in allen Fällen kleiner, als die bei Zufuhr von 2 cem.

Die Z.A.S. wird also durch Zufuhr von Cholsäure herabgesetzt, was eine durch Cholsäure geförderte Zuckerassimilation im Kaninchenorganismus bedeutet.

Bei peroraler Zufuhr von Cholsäure beträgt die Z.A.S. 0,22–0,29%, und sie wurde nicht so auffallend herabgesetzt gefunden, wie es bei subcutaner Zufuhr von Cholsäure der Fall war.

Dies scheint mir darauf zu beruhen, dass die Wirkung der Cholsäure bei peroraler Zufuhr später auftreten dürfte, als bei subcutaner Zufuhr, und dass der maximale Blutzuckergehalt in den meisten Fällen 2–3 Stunden nach der Zuckerbelastung, aber bei peroraler Zufuhr von Cholsäure in 1–2 Stunden erreicht wird, um 3 Stunden nach der Zuckerbelastung beträchtlich herabzusinken.

Kurz, es wird die Z.A.S. des normalen Kaninchens sowohl durch subcutane als auch durch perorale Zufuhr von Cholsäure herabgesetzt.

Die Zuckerassimilation wird also durch Cholsäure gefördert.

2. *Der Einfluss der Splenektomie auf die Z.A.S.*

Aus den Tabellen VIII–XIV lässt sich ersehen, dass die Z.A.S. des normalen Kaninchens 0,23–0,28% beträgt, während die des splenektomierten Kaninchens mit 0,26–0,29% gezeigt wird. 3–5 Tage oder 10 Tage nach der Operation wird die Z.A.S. des splenektomierten Kaninchens in allen Fällen erhöht. Die Zuckerassimilation des Kaninchens wird also durch Milzexstirpation herabgesetzt. Diese Resultate stimmen gut mit dem Ergebnis von Marx (1930), Lauda (1932) und Fuziwara (1932/33) überein, dass die Zuckertoleranz durch Splenektomie herabgesetzt wird.

Die Z.A.S. des splenektomierten Kaninchens beträgt 3–4 Wochen nach der Splenektomie 0,20–0,27%. Dieser Wert ist viel kleiner als der des normalen Kaninchens. Die Z.A.S. des splenektomierten Kaninchens 3–4 Wochen nach der Operation wird in vielen Fällen unter normal herabgesetzt, was auf die kompensierte Milzfunktion hinweist. Dieses Resultat stimmt mit dem Ergebnis von Fuziwara (1932/33) u. Noma (1925/26) überein.

VERSUCH VIII. (Kaninchen K.G. 2170 g)

Dat.	Harnmenge nach Stunden ccm			Blutzucker % (Harnzucker %)						Z.A.S.	Bemer- kungen
				vor	nach Stunden					%	
	1	2	3			½	1	1½	2		
5/X	2	2	3	0,101 (-)	0,166	0,223 (Spur)	0,225	0,225 (Spur)	0,265 (Spur)		
12/ „	4	12	15	0,108 (-)	0,208	0,225 (Spur)	0,250	0,263 (Spur)	0,214 (0,13)	0,26	
14/ „	Milzexstirpation										Milzgewicht 1,2 g
17/ „	3	6	17	0,098 (-)	0,200	0,242 (Spur)	0,263	0,275 (Spur)	0,213 (Spur)	0,27	
19/ „	8	12	13	0,110 (-)	0,213	0,255 (Spur)	0,249	0,241 (Spur)	0,167 (Spur)	0,25	Milzextrakt ←
10/XI	3	8	11	0,105 (-)	0,179	0,266 (Spur)	0,245	0,233 (Spur)	0,231 (Spur)	0,26	Cholatlös. ← 3 ccm
21/ „	10	21	21	0,099 (-)	0,185	0,226 (Spur)	0,252	0,272 (Spur)	0,174 (Spur)	0,27	

VERSUCH IX. (Kaninchen K.G. 2700 g)

Dat.	Harnmenge nach Stunden ccm			Blutzucker % (Harnzucker %)						Z.A.S.	Bemer- kungen
				vor	nach Stunden					%	
	1	2	3			½	1	1½	2		
6/X	2	8	14	0,125 (-)	0,208	0,248 (Spur)	0,272	0,324 (0,94)	0,334 (1,16)	0,24	Milzgewicht 0,9 g Milzextrakt ← Chelatlös. ← 3 ccm
13/ „	2	10	18	0,086 (-)	0,139	0,246 (Spur)	0,264	0,288 (0,40)	0,321 (0,79)	0,24	
14/ „	Milzexstirpation										
17/ „	7	12	34	0,105 (-)	0,212	0,286 (Spur)	0,330	0,305 (0,73)	0,252 (0,15)	0,28	
19/ „	9	20	32	0,091 (-)	0,187	0,224 (Spur)	0,224	0,226 (Spur)	0,145 (Spur)	0,22	
23/ „	18	18	14	0,091 (-)	0,229	0,227 (Spur)	0,306	0,290 (1,08)	0,163 (0,32)	0,27	
29/ „	4	15	25	0,102 (-)	0,164	0,216 (Spur)	0,243	0,256 (0,20)	0,230 (0,15)	0,21	
12/XI	5	30	25	0,096 (-)	0,155	0,196 (Spur)	0,251	0,259 (0,40)	0,219 (0,30)	0,20	

VERSUCH X (Kaninchen K.G. 1870 g)

Dat.	Harnmenge nach Stunden ccm			Blutzucker % (Harnzucker %)						Z.A.S.	Bemer- kungen
	1	2	3	vor	nach Stunden					%	
					½	1	1½	2	3		
15/X	6	12	12	0,095 (-)	0,177	0,245 (0,41)	0,247	0,347 (1,05)	0,168 (0,21)	0,24	Milzgewicht 1,1 g Milzextrakt +
1/XI	11	16	14	0,091 (-)	0,176	0,245 (0,21)	0,207	0,207 (Spur)	0,153 (Spur)	0,24	
16/ „	7	10	8	0,093 (-)	0,187	0,228 (Spur)	0,234	0,219 (Spur)	0,153 (Spur)	0,23	
18/ „	Milzexstirpation										
30/ „	12	20	11	0,090 (-)	0,233	0,256 (Spur)	0,266	0,201 (Spur)	0,118 (Spur)	0,26	
4/XII	6	10	17	0,086 (-)	0,164	0,215 (Spur)	0,226	0,182 (Spur)	0,088 (Spur)	0,22	
12/ „	5	14	8	0,119 (-)	0,165	0,231 (-)	0,199	0,196 (-)	0,154 (-)	0,23	

Exitus

VERSUCH XI (Kaninchen K.G. 2240 g)

Dat.	Harnmenge nach Stunden ccm			Blutzucker % (Harnzucker %)						Z.A.S.	Bemer- kungen
	1	2	3	vor	nach Stunden					%	
					½	1	1½	2	3		
30/X	7	40	13	0,114 (-)	0,189	0,249 (Spur)	0,299	0,333 (0,15)	0,297 (0,69)	0,25	Milzgewicht 2,2 g Milzextrakt + Cholatlös. + 3 ccm
19/XI	20	13	10	0,098 (-)	0,171	0,211 (Spur)	0,223	0,269 (Spur)	0,223 (Spur)	0,26	
7/XII	Milzexstirpation										
10/ „	21	21	7	0,098 (-)	0,194	0,250 (Spur)	0,238	0,280 (Spur)	0,226 (-)	0,28	
14/ „	18	28	2	0,097 (-)	0,184	0,279 (Spur)	0,288	0,252 (0,45)	0,210 (-)	0,27	
17/ „	18	23	10	0,103 (-)	0,203	0,294 (Spur)	0,260	0,252 (Spur)	0,229 (-)	0,29	
20/ „	25	23	12	0,100 (-)	0,200	0,251 (Spur)	0,267	0,241 (0,29)	0,236 (Spur)	0,25	
23/ „	18	25	15	0,093 (-)	0,203	0,231 (Spur)	0,262	0,220 (-)	0,167 (-)	0,23	

VERSUCH XII. (Kaninchen K.G. 2100 g)

Dat.	Harnmenge nach Stunden ccm			Blutzucker % (Harnzucker ‰)						Z.A.S.	Bemer- kungen
	vor			nach Stunden					%		
				1	2	3	½	1		1½	
10/XI	18	30	21	0,106 (-)	0,203	0,258 (0,20)	0,258	0,280 (0,32)	0,199 (Spur)	0,25	Milzgewicht 1, 7 g Milzextrakt ← " Cholatlös. → 3 ccm
20/ „	20	30	7	0,111 (-)	0,205	0,250 (0,17)	0,298	0,272 (0,58)	0,165 (Spur)	0,25	
1/XII	2	4	50	0,117 (-)	0,222	0,236 (-)	0,269	0,240 (0,33)	0,194 (Spur)	0,26	
5/ „	Milzexstirpation										
8/ „	22	30	6	0,112 (-)	0,185	0,219 (-)	0,281	0,255 (Spur)	0,204 (-)	0,23	
12/ „	5	25	10	0,098 (-)	0,179	0,208 (Spur)	0,237	0,271 (Spur)	0,237 (-)	0,27	
15/ „	33	26	6	0,097 (-)	0,207	0,264 (Spur)	0,278	0,231 (Spur)	0,183 (-)	0,28	
18/ „	12	30	2	0,110 (-)	0,181	0,205 (Spur)	0,222	0,214 (Spur)	0,190 (-)	0,22	
22/ „	10	28	19	0,099 (-)	0,224	0,260 (Spur)	0,274	0,237 (Spur)	0,174 (-)	0,27	

3. Der Einfluss des Milzextraktes und der Cholsäure auf die Z.A.S. des splenektomierten Kaninchens.

Aus den Tabellen VIII-XIV ist ersichtlich, dass die Z.A.S. des splenektomierten Kaninchens bei Zufuhr von Milzextrakt aus eigener Milz 0,22–0,27% beträgt, und dass dieser Wert dem des normalen Kaninchens beinahe gleich ist.

Die durch Splenektomie erhöhte Zuckerausscheidungsschwelle wird also durch Zufuhr von eigenem Milzextrakt wieder zur Norm hergestellt, und die Zuckerassimilation durch Zufuhr von Milzextrakt erhöht, was mit dem Ergebnis der oben genannten Autoren gut übereinstimmt.

Was den Einfluss der Cholsäure auf die Z.A.S. des splenektomierten Kaninchens anbetrifft, so wurde gefunden, dass die Z.A.S. des splenektomierten Kaninchens 0,21–0,26% beträgt. Die Z.A.S. des splenektomierten Kaninchens wird also durch Zufuhr

VERSUCH XIII (Kaninchen K.G. 2040)

Dat.	Harnmenge nach Stunden ccm			Blutzucker % (Harnzucker %)						Z.A.S.	Bemer- kungen
	1	2	3	vor	nach Stunden					%	
					½	1	1½	2	3		
22/X	8	18	2	0,112 (-)	0,196	0,273 (Spur)	0,291	0,267 (1,10)	0,182 (Spur)	0,27	
14/XI	5	10	5	0,097 (-)	0,159	0,254 (0,74)	0,298	0,250 (1,18)	0,194 (0,25)	0,25	
19/ „	5	12	11	0,092 (-)	0,189	0,230 (Spur)	0,215	0,146 (Spur)	0,100 (Spur)	0,23	
22/ „	Milzexstirpation										Milzgewicht 0,9 g
27/ „	6	13	20	0,099 (-)	0,199	0,229 (-)	0,266	0,233 (0,55)	0,133 (Spur)	0,26	
2/XII	2	8	6	0,129 (-)	0,147	0,214 (-)	0,270	0,220 (0,37)	0,159 (Spur)	0,27	
5/ „	2	13	10	0,124 (-)	0,209	0,252 (Spur)	0,256	0,209 (0,19)	0,110 (-)	0,25	Milzextrakt ←
9/ „	5	8	6	0,094 (-)	0,205	0,272 (0,64)	0,252	0,207 (0,31)	0,102 (-)	0,27	
13/ „	5	15	10	0,089 (-)	0,149	0,218 (Spur)	0,248	0,237 (0,31)	0,129 (-)	0,21	Cholatlös. ← 3 ccm
17/ „	5	12	5	0,086 (-)	0,168	0,237 (Spur)	0,216	0,177 (Spur)	0,124 (-)	0,23	

von Cholsäure beträchtlich herabgesetzt, und diese Herabsetzung tritt viel deutlicher auf, als bei eigenem Milzextrakt.

Die Zuckerassimilation des splenektomierten Kaninchen wird also durch Milzextrakt sowie Cholsäure bzw. durch letztere allein gesteigert. Dieses Ergebnis stimmt mit dem von Fuziwara (1932/33), Marx (1930), Lauda (1932), Chino u. Murao (1928) und Miyamura (1929) gut überein.

Aus den Resultaten geht hervor, dass die Milz für den Kohlehydratstoffwechsel eine hormonale regulatorische Funktion darstellt, und dass sie unter Förderung der Glykogenbildung in der Leber (nach Fuziwara (1933)) die alimentäre Hyperglykämie herabsetzt, wie es bei der Cholsäure der Fall war, dies hat die Verminderung der Z.A.S. zur Folge, wodurch die Zuckerassimilation im Organismus gefördert wird.

VERSUCH XIV. (Kaninchen K.G. 2360 g)

Dat.	Harnmenge nach Stunden ccm			Blutzucker % (Harnzucker %)						Z.A.S.	Bemer- kungen
	1	2	3	vor	nach Stunden					%	
					½	1	1½	2	3		
20/X	5	42	35	0,098 (-)	0,194	0,265 (Spur)	0,306	0,295 (0,55)	0,222 (Spur)	0,26	
24/ „	9	36	22	0,105 (-)	0,200	0,265 (Spur)	0,285	0,253 (Spur)	0,162 (Spur)	0,28	
9/XI	Milzexstirpation										Milzgewicht 0,8 g
15/ „	5	31	28	0,119 (-)	0,223	0,275 (Spur)	0,291	0,265 (Spur)	0,157 (Spur)	0,29	
18/ „	7	40	22	0,100 (-)	0,198	0,263 (Spur)	0,269	0,230 (Spur)	0,121 (Spur)	0,26	Milzextrakt ←
21/ „	15	48	19	0,103 (-)	0,199	0,266 (Spur)	0,243	0,224 (Spur)	0,111 (Spur)	0,26	
25/ „	5	15	50	0,103 (-)	0,181	0,203 (Spur)	0,231	0,241 (Spur)	0,158 (Spur)	0,24	Cholatlös. ← 3 ccm
30/ „	8	31	11	0,147 (-)	0,183	0,254 (Spur)	0,264	0,237 (Spur)	0,134 (Spur)	0,26	

Das Milzhormon wird bis zu einem gewissen Grad durch Cholsäure vertreten, die in der Leber gebildet wird. Ihre Bildung wird durch die Milz stark beeinflusst, wie Tanaka (1933) bewiesen hat.

Die Leber und die Milz stehen also für den Kohlehydratstoffwechsel in unverkennbarer Beziehung.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die Z.A.S. des normalen Kaninchens wird sowohl durch perorale als auch durch subcutane Zufuhr von Cholsäure herabgesetzt, und diese Herabsetzung bei subcutaner Zufuhr geht mit der zugeführten Menge von Cholsäure fast parallel.

2. Die Z.A.S. des Kaninchens wird durch Splenektomie erhöht, und diese erhöhte Z.A.S. wird durch subcutane Zufuhr von eigenem Milzextrakt zur Norm wiederhergestellt.

3. Die durch Splenektomie erhöhte Z.A.S. wird auch durch subcutane Zufuhr von Cholsäure zur Norm hergestellt.

Zum Schluss möchte ich nicht verfehlen, Herrn Prof. Dr. Teraoka für seine gütige Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit meinen herzlichen Dank auszusprechen.

LITERATUR.

- Chikamori, S. (1930): Okayama Igakkai Zasshi, Nr. 487, 1963.
 Chino u. Murao (1928): Folia Endocrinol., 4, 179.
 Eda, G. (1927): Jl. of Bioch., 7, 53. u. 79.
 „ (1927): „ 7, 319. u. 345.
 Fuzita, S. (1930): Arb. Med. Univ. Okayama, 2, 151.
 Fuziwara, K. (1932): Bioch. Zschr., 256, 384.
 Fuziwara, K. (1932, 1933): Bioch. Zschr., 256, 384. u. 259, 203.
 Hildebrandt, F. (1921): Arch. exp. Path. u. Pharm., 90, 142.
 Kawashima, S. (1928): Jl. of Bioch., 9, 337.
 „ (1927): „ 7, 361.
 Kawashima, S. u. Iwanaga, G. (1930): Jl. of Bioch., 11, 293.
 Lauda, E. (1932): Wiener Klin. Wschr., 45, 989.
 Marx, A. v. (1930): Klin. Wschr., 9, 2058.
 Misaki, K. (1928): Jl. of Bioch., 8, 235.
 Miyamura, S. (1929): Folia Endocrinol., 4, 2047.
 Murakami, K. (1928): Jl. of Bioch., 8, 261.
 Nakayama, M. (1924/25): Jl. of Bioch., 4, 139 u. 163.
 Noma, A. (1925, 1926): Okayama Igakkai Zasshi, 37, 929, 38, 1073 u. 38, 1185.
 Okamura, T. (1928): Jl. of Bioch., 9, 271.
 Sakaguchi, K., Matsuyama, T. u. Nakayama, M. (1925): Mitt. med. Fakult. Univ. Tokyo, 32, 61.
 Shima, H. S. (1925): Jl. of Bioch., 5, 333, 359 u. 377.
 Sekitoo, T. (1929, 1930): Jl. of Bioch., 11, 251 u. 12, 59.
 Taku, A. (1929): Arb. Med. Univ. Okayama, 1, 413.
 Tanaka, T. (1933): Jl. of Bioch., 18, 369.
 Togawa, T. (1920) Bioch. Zschr., 109, 1.
 Tsuji, K. (1930): Jl. of Bioch., 12, 139.
 Yokota, S. (1932): Jl. of Bioch., 15, 65.
 Yuuki, H. (1932): Zschr. Physiol. Chem., 209, 1.

ÜBER DEN EINFLUSS DER GALLENSÄURE AUF DIE NUCLEINVERDAUUNG. II.

Einfluss der Cholsäure auf den P_H und die Phosphat- ausscheidung im Darmsaft.

VON

TSUNEO KURAMOTO.

(Aus dem biochemischen Institut, Okayama, Japan.
Direktor: Prof. T. Shimizu.)

(Eingegangen am 20. December 1933)

Es ist bekannt, dass für die Eiweissverdauung im Darm die alkalische Reaktion des Darmsaftes unentbehrlich ist, was sich daraus ersehen lässt, dass der optimale P_H des Trypsins aus Pankreassaft nach Waldschmidt-Leitz (1924) 8,2–8,7, der des Erepsins nach Rona u. Arnheim (1913) 7,8 und der der Nucleotidase von Leber nach Deutsch (1927) 8,7 betragen soll.

Was den Ursprung der alkalischen Reaktion des Darmsaftes betrifft, so ist allgemein anerkannt, dass zwischen dem Darmlumen und dem Blut die Anionen gegeneinander ausgetauscht werden, und im Darmlumen das Natriumcarbonat oder Natriumbicarbonat gebildet wird, wovon die Alkalität des Darmsaftes ihren Ursprung nimmt, wie neuerdings von Oyama (1928) und Helzer (1926) im Darmsaft beobachtet wurde. Bekanntlich werden die Erdalkalienphosphate hauptsächlich durch den Darm ausgeschieden, und diese Ausscheidung wird nach Zucker (1921) durch Zufuhr von Natriumbicarbonat vermehrt. Wenn auch die Anionen der Phosphate gegeneinander durch die Darmwand ausgetauscht werden könnten, so müssten sie zur Regulierung der Reaktion des Darmsaftes beitragen. Nach Oeri (1921) sollte das Phosphation im Darmsaft ausser vom Blutphosphat von Lecithin und Nucleinsäure herkommen, deren Zufuhr mit hinreichender Menge von Calcium eine vermehrte Ausscheidung anorganischen Phosphates im Darm hervorruft.

Durch die Untersuchungen vieler Autoren, (wie Karasawa

1927, Hatakeyama 1928, Okamura 1928, Kawada 1931, Fuziwara 1931 und Kuramoto 1933), wurde bewiesen, dass der Nucleinstoffwechsel sowie die Nucleinverdauung durch Gallensäure gefördert wird, indem die Phosphorsäure im Harn, in der Galle und im Darmsaft vermehrt wird.

Dabei hat Itoo (1931) bei der Galle, Kuramoto (1933) beim Harn eine Steigerung des PH-Wertes und Itoo (1931) eine Vermehrung der Alkalireserve im Blut beobachtet. Wie schon oben erwähnt wurde, ist noch unbekannt, wodurch die Regulation der alkalischen Reaktion des Darmsaftes herbeigeführt wird. Es ist jedoch durch den Versuch von Itoo (1932) schon bekannt, dass die Alkalireserve der Galle durch Zufuhr von Gallensäure vermehrt wird, was sicher zu der Alkalität des Darmsaftes beitragen muss.

Seit Schiff und Stadelmann ist der enterohepatische Kreislauf der Gallensäure bekannt. Daher kann man wohl vermuten, dass die Gallensäure im Sinne der Regulierung der Wasserstoffionenkonzentration nach Itoo die Reaktion des Darmsaftes beeinflusst. In diesem Sinne habe ich unter Zufuhr von Gallensäure den PH und die Phosphorsäure im aus der Thiry-Vella-schen Darmfistel gewonnenen Darmsaft untersucht.

EXPERIMENTELLER TEIL.

Methodik.

Kräftigen Hunden wurde die Thiry-Vellassehe Darmfistel dicht unterhalb des Duodenums nach der Vorschrift von Boldyreff (1925) angelegt. Nachdem sich die Tiere von der Operationswunde ganz erholt hatten und wenigstens eine Woche lang mit einer bestimmten Nahrung gefüttert worden waren, wurden sie zum Versuch verwendet.

Die Versuche wurden in drei Perioden geteilt: Vor-, Versuchs- und Nachperiode. In allen Perioden wurde der Darmsaft mittelst des Gummikatheters aus der Darmfistel 6 Stunden lang, von 9 Uhr vormittags bis 3 Uhr nachmittags, je 3 Tage in eine Glaskugel gesammelt, und in der Versuchsperiode wurde dem Fistelhunde um 9 Uhr morgens 1 ccm pro Kilo einer 1%igen Na-Cholatlösung

intravenös oder je 3 ccm einer 10%igen Cholatlösung mit Brot per os verabreicht. Vor dem Sammeln des Darmsaftes wurde den Hunden immer um 8 Uhr morgens eine bestimmte Nahrung verabreicht, um die Sekretion des Darmsaftes aus der Fistel zu fördern.

Die Nahrung bestand bei Hund A aus 250 g Reis, 100 g trocknen Fischchen, 100 g Gemüse, 35 ccm Shoyusuppe aus Sojabohnen und 1250 ccm Wasser. Bei Hund B bestand sie aus 200 g Reis, 100 g trocknen Fischchen, 80 g Gemüse, 30 ccm Shoyusuppe aus Sojabohnen und 1000 ccm Wasser. Zuerst wurde die Menge des Darmsaftes von 6 Stunden bestimmt, dann sein spezifisches Gewicht und seine Reaktion gegen Lakmus untersucht. Der PH wurde mittelst der Chinhydronmethode nach Itano (1929, 1930) bestimmt. Die gesamte Phosphorsäure im Darmsaft wurde unter Veraschung, und die anorganische Phosphorsäure unter Enteiweissung nach Schenck gravimetrisch nach der Methode von Embden (1921) bestimmt.

Die Resultate sind in den folgenden Tabellen I-XII zusammengestellt.

1. Versuch bei parenteraler Zufuhr von Cholsäure.

Aus den Tabellen I-VIII lässt sich ersehen, dass die Menge des Darmsaftes von 6 Stunden in der Vor- und Nachperiode 9,2–30,0 ccm und in der Versuchsperiode 10,8–31,5 ccm beträgt. Die Sekretion des Darmsaftes wird also durch die parenterale Zufuhr von Cholsäure etwas gesteigert.

Sein spezifisches Gewicht beträgt in der Vor- und Nachperiode 1010–1015, in der Versuchsperiode 1011–1016, was auf eine Vermehrung der Trockensubstanz des Darmsaftes durch Cholsäure hindeutet. Die Reaktion des Darmsaftes ist in allen Perioden gegen Lakmus alkalisch.

Der PH der Vor- und Nachperiode beträgt 7,49–7,98, der der Versuchsperiode 7,63–8,14. Die Reaktion des Darmsaftes wird also durch Zufuhr von Cholsäure nach der alkalischen Seite hin verschoben.

Was die Phosphorsäure im Darmsaft betrifft, so wurde gefunden, dass die gesamte Phosphorsäure als P_2O_5 im 6stündigen

TABELLE I.

(1 ccm, 1% Na-Cholatlös. pro Kilo intravenös)

Hund A. 16,5 kg

Datum	Darmsaft							
	Menge ccm	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
18/IV	14,8	alkalisch	1015	7,586	3,02	20,51	1,72	11,62
19/ „	16,1	„	1015	7,621	3,27	20,31	1,73	10,77
20/ „	16,8	„	1014	7,603	3,48	20,71	1,97	11,73
21/ „	20,3	„	1016	7,898	4,27	21,02	2,50	12,36 ←
22/ „	17,5	„	1016	7,932	3,83	21,87	2,19	12,53 ←
23/ „	17,1	„	1015	7,881	3,69	21,46	2,19	12,78 ←
24/ „	15,6	„	1015	7,759	3,32	21,28	1,91	12,27
25/ „	14,6	„	1015	7,603	2,99	20,47	1,68	11,51
26/ „	16,5	„	1015	7,551	3,16	19,77	1,69	10,22

TABELLE II.

(intravenös)

Hund A.

Datum	Darmsaft							
	Menge ccm	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
2/V	12,5	alkalisch	1013	7,673	2,77	22,15	1,65	13,25
3/ „	17,0	„	1013	7,655	3,67	21,62	2,11	12,46
4/ „	21,5	„	1012	7,551	4,81	22,45	2,90	13,51
5/ „	23,8	„	1013	7,881	5,13	21,36	2,89	12,13 ←
6/ „	18,1	„	1014	7,915	3,74	20,38	2,18	11,70 ←
7/ „	13,0	„	1014	7,881	2,50	19,17	1,48	11,31 ←
8/ „	12,5	„	1013	7,811	2,71	21,69	1,58	12,70
9/ „	20,5	„	1013	7,707	4,19	20,44	2,55	12,46
10/ „	15,5	„	1013	7,638	3,31	21,37	1,86	12,06

TABELLE III.

(intravenös)

Hund A.

Datum	Darmsaft							
	Menge cem	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
11/V	15,7	alkalisch	1013	7,603	3,70	23,58	2,21	14,21
12/..	16,2	„	1013	7,638	3,57	22,08	2,12	13,11
13/..	17,1	„	1013	7,586	3,65	21,39	2,09	12,27
14/..	18,5	„	1014	7,759	4,16	21,96	2,26	12,18 ←
15/..	17,3	„	1014	7,811	3,48	19,83	1,88	10,74 ←
16/..	16,8	„	1013	7,881	3,38	19,25	1,77	10,39 ←
17/..	14,7	„	1013	7,777	3,12	21,21	1,99	13,58
18/..	15,1	„	1013	7,673	3,17	20,98	1,62	10,77
19/..	16,3	„	1014	7,621	3,58	22,02	2,02	13,06

TABELLE IV.

(intravenös)

Hund A.

Datum	Darmsaft							
	Menge cem	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
1/VI	25,0	alkalisch	1011	7,499	5,52	22,12	3,27	13,06
2/..	27,5	„	1011	7,551	6,23	22,67	3,34	13,23
3/..	30,0	„	1012	7,482	6,44	21,47	3,69	12,31
4/..	31,5	„	1011	7,638	7,03	22,32	3,91	12,41 ←
5/..	27,0	„	1012	7,759	5,55	20,51	3,14	11,62 ←
6/..	29,5	„	1012	7,846	5,78	19,59	3,47	11,77 ←
7/..	25,0	„	1013	7,586	5,60	22,46	3,80	15,18
8/..	21,5	„	1012	7,603	4,37	20,31	2,28	10,57
9/..	19,5	„	1012	7,517	4,25	21,79	2,42	12,36

TABELLE V.

(intravenös)

Hund B. 13.5 kg

Datum	Darmsaft							
	Menge ccm	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
21/IV	13,0	alkalisch	1012	7,673	2,49	19,18	1,53	11,77
22/ „	12,7	„	1012	7,638	2,53	19,90	1,54	12,15
23/ „	12,0	„	1012	7,690	2,34	19,48	1,44	11,98
24/ „	14,0	„	1014	8,019	2,96	21,17	1,90	13,38 ←
25/ „	13,8	„	1014	8,054	2,89	20,96	1,85	13,45 ←
26/ „	14,5	„	1013	8,036	3,06	21,12	1,92	13,27 ←
27/ „	12,8	„	1012	7,932	2,62	20,53	1,60	12,51
28/ „	13,8	„	1012	7,759	2,77	20,11	1,56	11,37
29/ „	13,0	„	1012	7,655	2,56	19,68	1,55	11,98

TABELLE VI.

(intravenös)

Hund B.

Datum	Darmsaft							
	Menge ccm	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
2/V	29,5	alkalisch	1012	7,621	5,61	19,03	3,81	12,92
3/ „	29,2	„	1012	7,586	5,94	20,36	3,60	12,38
4/ „	28,5	„	1011	7,655	5,25	18,44	3,37	11,83
5/ „	30,0	„	1011	8,071	5,46	18,21	3,42	11,38 ←
6/ „	28,2	„	1012	8,106	4,94	17,37	3,02	10,57 ←
7/ „	29,5	„	1012	8,141	4,84	16,26	3,11	10,39 ←
8/ „	26,3	„	1011	7,932	4,79	18,23	3,13	11,92
9/ „	20,0	„	1011	7,725	3,77	18,87	2,32	11,62
10/ „	22,0	„	1011	7,603	4,21	19,17	2,66	12,08

TABELLE VII.

(intravenös)

Hund B.

Datum	Darmsaft							
	Menge cem	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
11/V	12,6	alkalisch	1010	7,777	2,85	22,64	1,55	12,31
12/ „	14,3	„	1010	7,811	3,12	21,82	1,72	12,08
13/ „	13,5	„	1010	7,794	2,88	21,48	1,46	10,88
14/ „	14,8	„	1011	8,123	3,06	20,67	1,64	11,05 ←
15/ „	15,5	„	1011	8,106	2,76	17,81	1,54	9,92 ←
16/ „	16,2	„	1011	8,089	2,90	17,84	1,60	9,87 ←
17/ „	13,8	„	1011	7,967	2,78	20,16	1,44	11,13
18/ „	12,5	„	1010	7,811	2,29	18,34	1,21	9,70
19/ „	16,5	„	1010	7,759	3,58	22,38	2,17	13,18

TABELLE VIII.

(intravenös)

Hund B.

Datum	Darmsaft							
	Menge cem	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
30/V	8,5	alkalisch	1012	7,586	1,97	23,32	1,10	13,15
31/ „	10,0	„	1012	7,551	2,04	20,41	1,07	10,73
1/VI	10,2	„	1011	7,638	2,27	22,31	1,32	13,02
2/ „	11,5	„	1011	7,898	2,36	21,38	1,39	12,06 ←
3/ „	12,5	„	1012	8,019	2,25	21,81	1,30	12,63 ←
4/ „	10,8	„	1011	8,054	2,27	21,09	1,24	11,51 ←
5/ „	9,2	„	1010	7,932	1,95	21,23	1,12	12,27
6/ „	9,5	„	1010	7,725	1,84	19,43	0,95	10,09
7/ „	9,5	„	1011	7,638	2,10	22,17	1,30	13,83

Darmsaft in der Vor- und Nachperiode absolut mit 1,84–6,44 mg und mit 18,23–23,58 mg% enthalten ist, und dass die anorganische Phosphorsäure absolut 0,95–3,81 mg und 9,7–15,18 mg% beträgt, während die gesamte Phosphorsäure in der Versuchsperiode absolut mit 2,25–7,03 mg und mit 16,25–22,32%, und die anorganische absolut mit 1,24–3,91 mg und mit 9,87–13,45 mg% enthalten ist. Dies ist in den Tabellen I–VIII angegeben.

Aus diesen Daten lässt sich ersehen, dass die gesamte sowie die anorganische Phosphorsäure der absoluten Menge nach durch die parenterale Zufuhr von Cholsäure vermehrt, aber prozentual in den meisten Fällen vermindert wird.

Aus den obigen Ergebnissen geht hervor, dass die Cholsäure nicht nur die Sekretion des Darmsaftes fördert, sondern auch unter vermehrter Phosphatausscheidung dessen alkalische Reaktion verstärkt.

2. Versuch bei peroraler Zufuhr von Cholsäure.

Aus den Tabellen IX–XII ist ersichtlich, dass die Menge des Darmsaftes von 6 Stunden in der Kontrollperiode durchschnittlich 30,39 ccm, dagegen die in der Versuchsperiode 32,79 ccm beträgt. Die Sekretion des Darmsaftes wird also auch durch Fütterung mit Cholsäure etwas gesteigert. Sein spezifisches Gewicht wird dadurch ebenfalls etwas gesteigert. Seine Reaktion ist auch in allen Perioden gegen Lakmus alkalisch. Der P_{H} der Kontrollperiode beträgt 7,32–7,59, der der Versuchsperiode 7,60–7,85. Die Reaktion des Darmsaftes wird durch Fütterung mit Cholsäure stärker nach der alkalischen Seite hin verschoben als durch ihre parenterale Zufuhr. Dies weist darauf hin, dass die alkalische Reaktion des Darmsaftes mit der Leberfunktion eng verknüpft ist, indem die Gallensäure durch den enterohepatischen Kreislauf immer in die Leber gelangt und diese anregt.

Was die Phosphorausscheidung betrifft, so wurde gefunden, dass im 6stündigen Darmsaft in der Kontrollperiode die gesamte Phosphorsäure als P_2O_5 absolut mit 5,3–9,7 mg und mit 18,56–26,36 mg%, aber in der Versuchsperiode absolut mit 5,98–10,05 mg und mit 22,55–33,64 mg% enthalten ist, während die anorganische

Einfluss der Gallensäure auf die Nucleinverdauung.—II. 433

TABELLE IX.
(0,3 g Cholsäure per os)

Hund A. 16,5 kg

Datum	Darmsaft							
	Menge cem	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
24/VII	23,0	alkalisch	1010	7,361	5,64	24,54	3,48	15,19
25/ „	22,0	„	1010	7,413	5,53	25,13	3,67	16,66
26/ „	24,0	„	1010	7,395	6,33	26,36	4,07	16,96
27/ „	22,0	„	1010	7,759	5,98	27,18	3,31	17,31 ←
28/ „	27,0	„	1011	7,794	9,08	33,64	5,17	19,15 ←
29/ „	27,0	„	1011	7,673	8,03	29,74	5,04	18,65 ←
30/ „	27,5	„	1010	7,326	6,54	23,79	4,22	15,35
31/ „	26,5	„	1010	7,413	5,89	22,21	3,99	15,04
1/VIII	25,5	„	1010	7,378	6,08	23,83	4,14	16,23

TABELLE X.
(per os)

Hund A

Datum	Darmsaft							
	Menge cem	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
2/VIII	27,0	alkalisch	1009	7,395	5,82	21,54	3,89	14,42
3/ „	25,5	„	1010	7,430	6,17	24,21	3,86	15,15
4/ „	30,0	„	1010	7,413	7,03	23,44	4,73	15,77
5/ „	27,5	„	1011	7,621	8,08	29,38	4,79	17,42 ←
6/ „	37,5	„	1011	7,638	8,46	22,55	5,54	14,77 ←
7/ „	38,0	„	1011	7,673	9,76	25,69	5,72	15,05 ←
8/ „	39,0	„	1010	7,413	7,66	22,21	5,65	14,50
9/ „	34,5	„	1010	7,378	8,14	23,59	5,17	15,00
10/ „	30,5	„	1010	7,413	6,43	21,07	4,30	14,13

TABELLE XI.

(per os)

Hund A.

Datum	Darmsaft							
	Menge cem	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
22/VIII	22,5	alkalisch	1009	7,326	4,46	19,80	2,80	12,31
23/ „	28,0	„	1009	7,395	5,99	21,38	3,71	13,21
24/ „	32,5	„	1010	7,361	6,94	21,33	4,37	13,46
25/ „	34,5	„	1010	7,655	8,34	24,20	4,99	14,46 ←
26/ „	36,5	„	1010	7,742	8,79	24,10	4,60	12,61 ←
27/ „	38,0	„	1010	7,759	9,43	24,82	5,63	14,84 ←
28/ „	29,5	„	1010	7,499	6,34	21,23	4,01	13,54
29/ „	28,5	„	1011	7,413	5,30	18,56	3,50	12,07
30/ „	29,0	„	1010	7,378	6,54	22,15	3,86	13,31

TABELLE XII.

(per os)

Hund A.

Datum	Darmsaft							
	Menge cem	Reaktion	Spez. Gw.	PH	Gesamt-P (als P_2O_5)		Anorg. P (als P_2O_5)	
					Absolute Menge mg	mg %	Absolute Menge mg	mg %
31/VIII	35,0	alkalisch	1009	7,361	7,68	21,95	4,74	13,54
1/IX	36,5	„	1010	7,430	7,75	21,23	4,99	13,69
2/ „	36,5	„	1010	7,413	8,50	23,28	4,98	13,61
3/ „	36,0	„	1011	7,725	9,41	26,15	5,51	15,30 ←
4/ „	35,0	„	1011	7,846	10,05	28,72	5,52	15,77 ←
5/ „	34,5	„	1010	7,742	9,63	27,90	5,15	14,92 ←
6/ „	42,0	„	1010	7,465	8,66	20,62	4,75	11,31
7/ „	41,5	„	1010	7,395	9,70	23,38	6,00	14,46
8/ „	33,0	„	1010	7,413	6,75	21,05	4,23	12,83

Phosphorsäure der Kontrollperiode absolut 2,80–6,00 mg und 11,31–16,96 mg%, aber die der Versuchsperiode absolut 3,81–5,72 mg und 12,61–19,15 mg% beträgt.

Die Ausscheidung der gesamten sowie der anorganischen Phosphorsäure im Darm wird also der absoluten Menge nach und prozentual durch Fütterung mit Cholsäure gesteigert, genau so wie es bei ihrer parenteralen Zufuhr der Fall ist, nur tritt diese Vermehrung stärker auf als bei parenteraler Zufuhr. Dies deutet darauf hin, dass die organische sowie die anorganische Phosphorsäure sowohl durch perorale als auch durch parenterale Zufuhr in der gleichen Weise durch den Darm vermehrt ausgeschieden wird, was höchstwahrscheinlich durch den durch Cholsäure gesteigerten Nucleinstoffwechsel bedingt ist.

Somit ist ein Austausch der Phosphatanionen durch die Darmwand hindurch anzunehmen, durch den der PH des Darmsaftes gesteigert und dessen Alkalität vermehrt wird. Auf die letztere wird noch im Bericht über den nächsten Versuch eingegangen werden.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die Sekretion des Darmsaftes aus der Thiry-Vellaschen Fistel und sein spezifisches Gewicht werden sowohl durch parenterale als auch durch perorale Zufuhr von Cholsäure in gleicher Weise gesteigert.

2. Dadurch werden auch sein PH-Wert und die Ausscheidung der gesamten sowie der anorganischen Phosphorsäure vermehrt. Diese Vermehrung tritt bei peroraler Zufuhr von Cholsäure viel stärker auf als bei parenteraler.

Diese Daten weisen darauf hin, dass die Wirkung der verfütterten Cholsäure erst nach ihrer Resorption aus dem Darm zustande kommt und dass die alkalische Reaktion des Darmsaftes mit der Funktion der Leber in innigem Zusammenhang steht.

LITERATUR.

- Boldyreff, W. N. (1925): *Erg. d. Physiol.*, **24**, 426.
Deutsch, W. (1927): *Zschr. Physiol. Chem.*, **171**, 264.
Emlden, G. (1921): *Zschr. Physiol. Chem.*, **113**, 138.

- Fuziwara, K. (1931): *Jl. of Bioch.*, **13**, 43.
Hatakeyama, T. (1928): *Jl. of Bioch.*, **8**, 261.
Helzer, J. (1926): *Bioch. Zschr.*, **166**, 116.
Itano, A. (1929, 1930): *Ber. d. Ohara Inst.*, **4**, 19 u. **4**, 471.
Ito, T. (1930): *Arb. a. d. Med. Univ. Okayama*, **2**, 103.
Ito, T. (1931): *Arb. a. d. med. Univ. Okayama*, **2**, 272.
Ito, T. (1932): *Bioch. Zschr.*, **254**, 50.
Karasawa, R. (1927): *Jl. of Bioch.*, **7**, 145.
Kawada, Y. (1931): *Ebenda*, **13**, 133.
Kuramoto, T. (1932): *Ebenda*, **16**, 141.
Kuramoto, T. (1934): *Jl. of Bioch.*, **19**, 245.
Oeri, F. (1921): *Zschr. klin. Med.*, **18**, 272.
Okamura, T. (1928): *Jl. of Bioch.*, **8**, 391.
Oyama, K. (1928): *Jl. of Bioch.*, **9**, 1.
Rona, P. u. Arnheim, F. (1913): *Bioch. Zschr.*, **67**, 84.
Waldschmidt-Leitz, E. (1924): *Zeitschr. Physiol. Chem.*, **132**, 181.
Zucker, T. F. (1921): *Proc. Soc. exp. biol. u. Med.*, **18**, 272.

ÜBER DEN EINFLUSS DER GALLENSÄURE AUF DIE NUCLEINVERDAUUNG. III.

Einfluss der Cholsäure auf die Ausscheidungen von Na, K, Ca und Mg im Darmsaft.

VON

TSUNEO KURAMOTO.

(Aus dem biochemischen Institut, Okayama, Japan.

Direktor: Prof. T. Shimizu.)

(Eingegangen am 20. December 1933)

In der zweiten Mitteilung (1934) habe ich berichtet, dass das PH des Darmsaftes aus der Thiry-Vellaschen Darmfistel durch Zufuhr von Cholsäure gesteigert, und die Phosphorsäureausscheidung durch den Darm dadurch vermehrt wird. Dabei habe ich die Ansicht vertreten, dass die Phosphatanionen, die durch die den Nucleinstoffwechsel fördernde Wirkung der Cholsäure geliefert werden, mit denen der durch Cholsäure im Darmsaft vermehrten Salze ausgetauscht werden, infolge wovon eine Vermehrung der Alkalien im Darmsaft stattfindet, durch die eine stärkere alkalische Reaktion hervorgerufen wird. In diesem Sinne ist es von Bedeutung, die Alkalien und Erdalkalien im Darmsaft bei Zufuhr von Cholsäure zu untersuchen.

Seit Zondek (1921/22) ist allgemein anerkannt, dass die Ionenverteilung der Organe und der Gewebe mit der Funktion des vegetativen Nervensystems in innigem Zusammenhang steht. Die Gallensäure wirkt (nach Tsuji, 1930, Sekitoo, 1930, und Kaziro u. Taku, 1929) auf den Sympathicus lähmend und auf den Vagus reizend. Die Zufuhr der Gallensäure sollte also eine Ionenverschiebung im Organismus hervorrufen, welche die veränderte Ausscheidung der Alkalien und Erdalkalien im Harn, in der Galle und im Darmsaft zur Folge hat.

Somit hat Sekitoo (1930) bei Zufuhr von Cholsäure eine Vermehrung des Calciums und Magnesiums im Blut und eine solche des Calciums im Harn beobachtet, und Kawada (1931) hat die

dadurch vermehrte Ausscheidung des Calciums in der Galle festgestellt, während nach Fuziwara (1931) und Okii (1932) die Calciumausscheidung im Kot dadurch vermindert wird.

Seit langem ist allgemein bekannt, dass die Alkalien- bzw. Erdalkalienphosphate durch den Darm ausgeschieden werden.

EXPERIMENTELLER TEIL.

Methodik.

Zum Versuch wurden kräftige, mit der Thiry-Vellaschen Fistel versehene Hunde verwendet, von denen der eine Hund A, vom Körpergewicht 16,5 kg, vor und während des Versuches um 8 Uhr morgens mit 250 g Reis, 100 g trocknen Fischchen, 80 g Gemüse, 35 cem Shoyusuppe aus Sojabohnen und 1250 cem Wasser, der andere Hund B, vom Körpergewicht 13,5 kg, mit 200 g Reis, 100 g trocknen Fischchen, 50 g Gemüse, 25 cem Shoyusuppe und 1 Liter Wasser gefüttert wurde. Die Sammlung des 6stündigen Darmsaftes, und die Untersuchungen über seine Menge, seine Reaktion und sein spezifisches Gewicht wurden in 3 Perioden genau ebenso wie zuvor ausgeführt.

Nach der Veraschung des Darmsaftes auf trockenem Wege wurden das Calcium nach De Waard (1919) bestimmt, und das Magnesium als Ammoniummagnesiumphosphat gefällt, dessen Phosphor nach Embden (1921) gravimetrisch bestimmt und dann für Magnesium umgerechnet wurde. Natrium und Kalium wurden nach Kramer und Tisdall (1921) bestimmt.

Die Versuche wurden in 3 Perioden geteilt. Bei einer von diesen wurde eine Stunde nach der Fütterung 1 cem einer 1%igen Na-Cholatlösung intravenös oder je 3 cem einer 10%igen Na-Cholatlösung pro Kilo mit Brot per os verabreicht. Die Ergebnisse der 3 Perioden wurden miteinander verglichen. Die Resultate sind in den folgenden Tabellen I-VIII zusammengestellt.

1. Versuch bei intravenöser Zufuhr der Cholsäure.

Auch bei diesen Versuchen wird die Sekretion des Darmsaftes gesteigert und sein spezifisches Gewicht etwas erhöht. Aus den Tabellen I-IV lässt sich ersehen, dass der Natriumgehalt des Darm-

TABELLE I.
(1 cem, 1% Na-Cholatös. pro Kilo intravenös)

Datum	Menge cem	Reaktion	Spez. Gew.	Darmsaft							
				Na		K		Ca		Mg	
				mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %
1/VI	25,0	alkalisch	1011	81,75	326,98	4,81	19,26	1,43	5,71	0,53	2,12
2/ "	27,5	"	1011	85,63	311,37	7,36	26,78	1,24	4,52	1,20	4,36
3/ "	30,0	"	1012	93,07	310,24	5,20	17,32	1,19	3,99	1,01	3,38
4/ "	31,5	"	1012	119,40	379,06	6,27	19,91	1,13	3,60	1,42	4,52
5/ "	27,0	"	1011	106,91	395,98	6,77	25,08	1,02	3,73	0,68	2,51
6/ "	29,5	"	1012	96,91	328,52	7,98	27,03	1,25	4,25	1,02	3,45
7/ "	25,0	"	1013	71,57	286,27	6,30	26,40	2,03	8,13	1,01	4,03
8/ "	21,5	"	1012	70,34	327,17	4,70	21,88	1,89	8,79	0,91	4,24
9/ "	19,5	"	1012	71,66	367,46	4,05	20,76	1,08	5,70	0,81	4,08

←
←
←

TABELLE II.

(intravenös)

Hund B. 13,5 kg

Datum	Menge cem	Reaktion	Spez. Gew.	Darmsaft							
				Na		K		Ca		Mg	
				mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %
14/VI	11,3	alkalisch	1011	37,22	329,41	1,78	15,71	0,41	3,61	0,45	3,98
15/ "	9,5	"	1012	29,95	315,28	2,35	24,71	0,31	3,22	0,42	4,48
16/ "	7,9	"	1011	24,60	311,36	1,93	24,42	0,58	7,28	0,48	6,03
17/ "	8,8	"	1011	40,33	458,31	2,09	23,83	0,26	2,92	0,46	5,24
18/ "	9,8	"	1011	36,09	368,23	2,44	24,91	0,43	4,38	0,57	5,81
19/ "	12,5	"	1011	33,00	264,00	2,95	23,54	0,34	2,75	0,53	4,25
20/ "	9,8	"	1011	26,66	272,00	1,83	18,69	0,26	2,64	0,43	4,42
21/ "	8,2	"	1012	30,59	373,03	1,96	23,93	0,52	6,39	0,42	5,08
22/ "	9,5	"	1011	29,15	306,85	2,33	24,53	0,46	4,82	0,40	4,21

TABELLE III.

(intravenös)

Hund A.

Datum	Menge ccm	Reaktion	Spez. Gew.	Darmsaft							
				Na		K		Ca		Mg	
				mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %
14/IX	29,0	alkalisch	1011	94,26	324,91	5,53	19,06	0,77	2,67	0,68	2,36
15/ "	36,5	"	1009	109,94	301,22	7,23	19,81	1,50	4,11	1,09	2,45
16/ "	39,5	"	1010	131,88	333,94	11,95	30,25	1,68	4,25	0,95	2,39
17/ "	41,5	"	1011	136,50	331,68	7,76	18,69	0,91	2,20	1,09	2,61
18/ "	50,0	"	1010	164,80	329,43	16,59	33,18	1,44	2,88	1,61	3,21
19/ "	42,5	"	1010	148,66	349,73	11,70	27,53	1,28	3,02	1,34	3,16
20/ "	47,5	"	1010	146,20	307,99	13,44	28,29	2,27	4,79	1,58	3,32
21/ "	42,0	"	1010	146,42	348,60	9,51	22,64	1,67	3,97	1,21	2,89
22/ "	40,5	"	1010	130,88	327,17	10,64	26,28	1,83	4,52	1,79	4,41

TABELLE IV.
(intravenös)

Hund A.

Datum	Menge ccm	Reaktion	Spez. Gew.	Darmsaft							
				Na		K		Ca		Mg	
				mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %
23/IX	42,0	alkalisch	1010	155,89	371,16	11,88	28,29	2,25	5,35	1,99	4,74
24/ "	36,5	"	1011	121,89	333,94	11,29	30,92	1,85	5,07	1,33	3,65
25/ "	41,0	"	1011	157,73	384,70	11,28	27,53	2,48	6,05	1,36	3,32
26/ "	38,0	"	1011	169,76	446,76	10,89	28,66	1,71	4,51	2,09	5,50
27/ "	41,5	"	1011	163,50	393,98	13,77	33,18	1,99	4,79	1,90	4,58
28/ "	37,0	"	1011	125,64	339,58	9,77	26,41	1,25	3,38	0,85	2,29
29/ "	33,0	"	1011	129,19	391,48	8,09	24,52	1,35	4,09	1,51	4,58
30/ "	43,0	"	1011	139,22	323,76	12,00	27,91	1,94	4,51	1,89	4,41
I/X	35,0	"	1010	122,50	350,86	9,11	26,03	2,17	6,19	1,19	3,38

TABELLE V.
(0,3 g Cholsäure per os)

Hund A.

Datum	Menge ccm	Reaktion	Spez. Gew.	Darmsaft							
				Na		K		Ca		Mg	
				mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %
24/VII	23,0	alkalisch	1010	72,14	313,63	7,71	31,17	1,57	6,84	0,79	3,43
25/ "	22,0	"	1010	78,93	358,76	6,10	27,72	1,30	5,92	0,82	3,70
26/ "	24,0	"	1010	79,87	332,81	5,92	24,65	1,53	6,31	0,92	3,87
27/ "	22,0	"	1010	80,66	366,65	7,03	31,94	1,13	5,13	0,94	4,25
28/ "	27,0	"	1011	102,65	380,19	10,18	37,69	1,14	4,21	1,25	4,63
29/ "	27,0	"	1011	95,45	354,24	11,63	43,07	1,24	4,61	0,87	3,21
30/ "	27,5	"	1010	92,44	336,19	10,06	36,93	2,03	7,36	0,97	3,54
31/ "	26,5	"	1010	95,37	359,88	8,87	33,47	1,29	4,87	1,01	3,81
1/VIII	25,5	"	1010	81,41	319,27	5,99	23,50	1,63	6,58	1,04	4,09

←
←
←

TABELLE VI.
(per os)

Hund A.

Datum	Menge ccm	Reaktion	Spez. Gew.	Darmsaft							
				Na		K		Ca		Mg	
				mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %
31/VIII	35,0	alkalisch	1009	107,40	306,86	8,38	23,95	1,93	5,52	0,84	2,40
1/IX	36,5	"	1010	126,41	346,34	8,31	22,77	1,35	3,69	1,41	3,87
2/ "	36,5	"	1010	124,36	340,70	9,02	24,72	1,69	4,08	1,25	3,43
3/ "	36,0	"	1011	116,97	324,91	9,87	27,41	1,28	3,56	1,20	3,32
4/ "	35,0	"	1010	132,28	377,93	10,94	31,26	1,06	3,03	1,18	3,38
5/ "	34,5	"	1010	114,04	330,55	6,81	19,72	1,36	3,95	1,18	3,43
6/ "	42,0	"	1009	130,58	313,29	12,80	30,19	1,38	3,29	0,92	2,18
7/ "	41,5	"	1010	122,11	297,83	6,43	15,50	1,64	3,95	1,56	3,76
8/ "	33,0	"	1010	108,49	328,75	6,63	20,10	1,35	4,08	1,23	3,81

TABELLE VII.

(per os)

Hund A

Datum	Darmsaft										
	Menge cem	Reaktion	Spez. Gew.	Na		K		Ca		Mg	
				mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %
8/X	33,0	alkalisch	1011	116,52	353,11	8,72	26,41	1,67	5,07	1,01	3,05
9/ "	42,0	"	1010	142,63	339,58	8,33	19,83	1,66	3,95	1,53	3,65
10/ "	32,0	"	1012	118,02	375,07	7,92	24,75	1,49	4,65	1,19	3,70
11/ "	47,0	"	1013	155,36	330,56	14,95	31,81	2,04	4,34	2,05	4,36
12/ "	38,0	"	1013	155,61	409,51	13,12	34,53	1,10	2,90	1,53	4,03
13/ "	36,0	"	1012	136,86	380,19	9,93	27,57	1,28	3,55	1,16	3,21
14/ "	32,0	"	1011	93,87	293,32	6,35	19,83	1,60	5,00	1,15	3,60
15/ "	37,0	"	1011	141,92	383,56	7,63	20,61	1,99	5,39	1,09	2,94
16/ "	38,0	"	1012	116,61	306,85	7,09	18,67	1,05	2,77	0,87	2,29

TABELLE VIII.
(per os)

Hund A.

Darmsaft

Datum	Menge cem	Reaktion	Spez. Gew.	Na		K		Ca		Mg	
				mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %
19/X	34,0	alkalisch	1011	101,26	297,84	9,29	27,33	2,19	6,44	1,04	3,05
20/ "	31,0	"	1010	114,71	370,04	7,20	23,49	1,27	4,08	1,06	3,43
21/ "	34,0	"	1011	108,55	319,27	7,60	22,35	1,48	4,34	1,15	3,38
22/ "	44,0	"	1011	161,82	367,78	14,39	32,71	1,51	3,43	1,49	3,38
23/ "	37,0	"	1012	131,91	353,50	13,38	36,16	1,17	3,16	1,45	3,92
24/ "	33,0	"	1011	115,53	353,11	16,62	50,36	1,00	3,03	0,86	2,62
25/ "	30,0	"	1011	99,84	332,81	10,74	35,78	1,22	4,08	1,00	3,32
26/ "	35,0	"	1012	110,95	317,01	11,48	31,94	1,66	4,74	1,49	4,25
27/ "	33,0	"	1012	117,27	355,37	7,93	24,03	1,30	3,95	1,20	3,55

saftes in den Kontrollperioden der absoluten Menge nach durchschnittlich 93,26 mg in 6 Stunden, prozentual 330,71 mg%, dagegen bei Zufuhr von Cholsäure der absoluten Menge nach durchschnittlich 111,79 mg, prozentual 365,43 mg% beträgt.

Der durchschnittliche Kaliumgehalt der Kontrollperioden wird absolut mit 6,94 mg in 6 Stunden, prozentual mit 24,01 mg% gezeigt, während er bei Zufuhr von Cholsäure absolut 8,25 mg und prozentual 26,0 mg% beträgt.

Natrium und Kalium im Darmsaft werden also durch intravenöse Zufuhr von Cholsäure vermehrt. Was den Calcium- und Magnesiumgehalt des Darmsaftes betrifft, so ist aus den Tabellen I-IV ersichtlich, dass der durchschnittliche Calciumgehalt der Kontrollperioden in 6 Stunden absolut 1,38 mg und prozentual 5,02 mg%, und der bei Zufuhr von Cholsäure absolut 1,08 mg und prozentual 3,54 mg%, dagegen der durchschnittliche Magnesiumgehalt der Kontrollperioden absolut 1,03 mg, prozentual 3,85 mg%, und der bei Zufuhr von Cholsäure absolut 1,13 mg, prozentual 3,93 mg% beträgt. Die Ausscheidung von Calcium im Darmsaft wird also durch intravenöse Zufuhr von Cholsäure herabgesetzt, die von Magnesium dagegen etwas vermehrt.

2. Versuch bei peroraler Zufuhr der Cholsäure.

Sowohl die Sekretion des Darmsaftes als auch sein spezifisches Gewicht werden durch die perorale Zufuhr von Cholsäure vermehrt, genau so, wie es bei der parenteralen Zufuhr der Fall ist. In beiden Fällen ist die Reaktion des Darmsaftes gegen Lakmus alkalisch. Aus den Tabellen V-VIII lässt sich ersehen, dass die Ausscheidung des Natriums und Kaliums im Darmsaft in 6 Stunden durch die perorale Zufuhr der Cholsäure vermehrt, die des Calciums dagegen herabgesetzt und die des Magnesiums ganz wenig vermehrt wird.

Die Ausscheidungen der Alkalien und Erdalkalien im Darmsaft werden also sowohl durch perorale als auch durch parenterale Zufuhr von Cholsäure in der gleichen Weise beeinflusst. Der Einfluss der Cholsäure auf die Ausscheidung der Alkalimetalle tritt also erst nach ihrer Resorption aus dem Darm auf. Dieses

Ergebnis und die Vermehrung der Phosphorsäure im Darmsaft bei Zufuhr von Cholsäure scheinen darauf hinzuweisen, dass die durch die Zufuhr der Cholsäure verstärkte alkalische Reaktion des Darmsaftes auf der Vermehrung der Alkalienphosphate, bzw. des sekundären Phosphates beruht.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Das Natrium und das Kalium des Darmsaftes aus der Thiry-Vellaschen Fistel werden sowohl durch parenterale als auch durch perorale Zufuhr von Cholsäure vermehrt, während das Calcium in beiden Fällen vermindert wird.

2. Das Magnesium im Darmsaft wird dagegen in beiden Fällen etwas vermehrt. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dass der Einfluss der peroral zugeführten Cholsäure auf die Ausscheidung der Alkalien und Erdalkalien erst nach ihrer Resorption auftritt.

LITERATUR.

- De Waard, D. J. (1919): *Bioch. Zschr.*, **97**, 176.
Embden, G. (1921): *Zschr. Physiol. Chem.*, **113**, 138.
Fujiwara, K. (1931): *Jl. of Bioch.*, **13**, 465.
Kramer, B. u. Tisdall, F. F. (1921): *Jl. of biolog. Chem.*, **48**, 223.
Kawada, Y. (1931): *Jl. of Bioch.*, **13**, 133.
Kaziro, K. u. Taku, A. (1929): *Jl. of Bioch.*, **11**, 203.
Kuramoto, T. (1934): *diese Zschr.*
Okii, I. (1932): *Jl. of Bioch.*, **16**, 217.
Sekitoo, T. (1930): *Jl. of Bioch.*, **12**, 59.
Sekitoo, T. (1930): *Jl. of Bioch.*, **11**, 251.
Tsuji, K. (1930): *Jl. of Bioch.*, **12**, 139.
Zondek, S. G. (1921/22): *Bioch. Zschr.*, **121**, 87; **132**, 362.

DURCHBLUTUNGSVERSUCHE DES MAGENS.

(Ausgeführt unter der Leitung von Prof. Dr. M. Tsudji.)

IV. Mitteilung.

Über Durchblutungsversuche des Magens mit Harnstoff.

VON

SEIICHI SUMIDA.

(Aus der inneren Klinik der med. Fakultät zu Nagasaki, Japan.)

(Eingegangen am 7. Februar 1934)

Bei Durchblutungsversuchen des Hundemagens entdeckte ich mit Yoshida (1933), dass der Harnstoff, welcher in einer bestimmten Menge ins Blut eingeführt wurde, nach dreistündiger Durchblutung in beträchtlicher Menge verschwand. 1924 fand Luck Urease in der Magenschleimhaut. Wenn der Harnstoff durch die ureatische Wirkung der Magenschleimhaut zersetzt wird, sollte sich der Ammoniak-N in der dem verlorenen Harnstoff-N entsprechenden Menge im Blute vorfinden. Aber im Gegensatz dazu wurde der Ammoniak-N im Blute nach der Durchblutung nur wenig höher als vor der Durchblutung gefunden. Auch im Magensaft, welcher während der Durchblutung sezerniert wurde, fand sich der Ammoniak-N vor. Da aber die Menge des Magensaftes nicht gross war, war die absolute Menge des Ammoniak-N natürlich ganz gering. Die Menge des Ammoniak-N, welche im Blute und im Magensaft gefunden wurde, blieb also weit hinter der Menge des verloren gegangenen Harnstoff-N zurück. Nach unseren Untersuchungen ist der Harnstoff, der konstitutionell dem Guanidin sehr ähnlich ist, ein Sekretionserreger des Magensaftes. Bezüglich der chemischen Vorgänge, welche im tätigen Zustande der Magenschleimhaut dort herrschen, liegen bis jetzt nur wenige Untersuchungen vor. *d*-Alanin, welches ein Erreger für die Magensaftsekretion ist, wird bei der Durchblutung des Magens in der Magenwand zerlegt, um Milchsäure zu bilden, und wird teilweise mit der Milchsäure zusammen in den Magensaft

ausgeschieden, der während der Durchblutung sezerniert wird (Matsuoka, 1933). *l*-Leucin, das auch ein starker Erreger für die Magensaftsekretion ist, wird bei der Durchblutung in der Magenschleimhaut in Acetonkörper umgewandelt und teilweise mit dem Aceton zusammen im Magensaft sowie in der Schleimhaut vorgefunden (Ikebe, 1933). Wenn man dem Kleinhirnhunde subcutan Histamin injiziert, fließt der Magensaft sofort sehr lebhaft aus dem Kleinhirn, welcher eine histaminähnliche pharmakologische Wirkung gegen glattemuskelige Organpräparate zeigt (Yoshida, 1931), aus. Tatsächlich wird beim Durchblutungsversuche mit Histamin das Histamin im Magensaft sowie in der Schleimhaut chemisch rein nachgewiesen (Yoshida, 1933). Also scheint es sich im allgemeinen so zu verhalten, dass die Erreger und ihre Umwandlungsprodukte sich teilweise in der Magenwand an derselben Stelle ablagern und teilweise im Magensaft sich vorfinden. Beim Durchblutungsversuche mit Harnstoff wurden der Harnstoff und das Ammoniak im Blute sowie im Magensaft so gering vorgefunden, dass man damit den Schwund des Harnstoffes nicht erklären konnte. Doch stehen Untersuchungen der Magenwand darüber noch aus. Offenbar muss das Schicksal des Harnstoffes in der Magenwand noch genauer studiert werden, weil der Harnstoff einerseits ein Erreger für die Magensaftsekretion und andererseits ein normaler Bestandteil des Blutes ist, weshalb die Harnstofffrage sich auch in jegliche Durchblutungsversuche einmischen wird.

EXPERIMENTELLER TEIL.

Zu den Experimenten wurden Hundemagen gebraucht. Die Methode der Durchblutung des Magens wurde genau nach Yoshida durchgeführt. Die Durchblutung dauerte immer über 3 Stunden. Nach dem Ende der Durchblutung wurde die Schleimhaut von der Muskelschicht mit stumpfem Messer schnell getrennt. Die beiden Schichten wurden mit Wasser energisch ausgezogen. Um dabei traumatische Ammoniakbildung möglichst zu vermeiden, wurde jede Schicht zuerst unter salzsäuresaurer Reaktion gekocht, und dann mit der Schere klein geschnitten, nochmals gekocht und

filtriert. Der Rückstand wurde noch einmal mit Wasser gekocht, filtriert, und mehrmals mit heissem Wasser erschöpfend gewaschen. Das Filtrat wurde in einem Kolben vereinigt, unter vermindertem Druck bis auf ungefähr 100 ccm eingengt und mit Natriumcarbonatlösung neutralisiert. Das Blut und das Filtrat der beiden Schichten des Magens sowie des Magensaftes, der während der Durchblutung sezerniert wurde, wurden nach van Slyke Cullen (1914) auf Harnstoff und Ammoniak quantitativ untersucht.

Blut: Im I Kontrollversuche stieg der Ammoniak-N im Blute von 0.75 mg% bis auf 2.82 mg%, wogegen der Harnstoff-N von 4.03 mg% bis auf 1.79 mg% fiel. Nach Parnas (1927) geht das Ammoniak, welches im tätigen Muskel gebildet wird, ins Blut über. Warburg (1924) beobachtete, dass die isolierten drüsigen Organe Ammoniak erzeugen. Bei Durchblutungsversuchen der verschiedenen Organe mit gewissen Substanzen wird das Ammoniak im Blute sehr vermehrt nachgewiesen (Bornstein, 1929). Also ist es selbstverständlich, dass der Ammoniak-N im Blute nach einer Durchblutung des Magens von bestimmter Zeitdauer sich vermehrt vorfand, wobei der Magen motorisch und sekretorisch sehr tätig gewesen sein sollte. Vom Harnstoff aus betrachtet, ging der Harnstoff-N nach der Durchblutung in der Menge von 2.24 mg% verloren. Der Vorgang musste in der Magenschleimhaut selbst stattfinden, weil der Harnstoff im Blute im Laufe der Zeit unverändert bleibt (Parnas, 1924). In meinem Versuche war der verschwundene Harnstoff-N in seiner Menge fast gleich der Menge des vermehrten Ammoniak-N. Wenn man also annehmen darf, dass der Schwund des Harnstoff-N durch die ureatische Wirkung der Magenschleimhaut hervorgerufen wird, müssen die anderen Momente der Ammoniakbildung in der Magenwand verneint werden.

Mageninhalt: Im Mageninhalt fand ich den Ammoniak-N durchschnittlich zu 5.31 mg% und den Harnstoff-N durchschnittlich zu 1.21 mg%. Der Wert der beiden Substanzen im Mageninhalt stimmt mit dem Werte des Ammoniaks und des Harnstoffes im gewöhnlichen Magensaft des Kleinmagenhundes (Inoue, 1929) sowie des Menschen (Sumida u. Hongo, 1930) überein.

Schleimhaut und Muskelschicht des Magens. Ich fand in der

TABELLE I.

1. Kontrollversuche.

Nr.	Geschlecht.	K.G. (kg)	Menge d. zugesetzt. U	Menge d. Blut. (ccm)	Druck in Hg-Säule (mm)	Durchblutungsdauer (St)	Blut						Mageninhalt			Muskelschicht			Schleimhautschicht			
							NH ₃ -N mg%		U-N mg%		Menge (ccm)	NH ₃ -N mg%	U-N mg%	Menge (ccm)	NH ₃ -N mg%	U-N mg%	Menge (ccm)	NH ₃ -N mg%	U-N mg%	Menge (ccm)	NH ₃ -N mg%	U-N mg%
							vor	nach	Diff.	vor												
I	♂	15.3	0	300	20	3	0.56	2.52		4.48	2.24		44	7.56	0	110	4.20	0	110	4.79	1.30	
II	♀	10.6	0	"	"	"	1.14	3.08		3.36	1.94		13	1.68	3.36	100	3.84	0	95	3.64	0.91	
III	♀	9.0	0	"	"	"	0.84	3.64		2.56	1.40		15	5.60	2.24	95	2.80	0.98	100	2.01	0.91	
IV	♂	10.2	0	"	"	"	0.84	3.64		3.64	2.24		15	6.70	0	110	5.17	0	105	5.31	1.30	
V	♂	8.2	0	"	"	"	0.28	2.52		2.52	0.84		25	5.32	0.28	90	4.32	3.84	100	3.64	0.56	
VI	♂	19.2	0	"	"	"	0.84	5.20		7.56	2.08		30	5.04	1.40	120	3.36	1.12	120	4.84	0	
im Durchschnitt							0.75	2.82	2.07	+	4.02	1.79	-	24	5.31	1.21	104	3.95	0.99	105	4.04	0.83

Muskelschicht den Ammoniak-N zu 3.94 mg% und den Harnstoff-N zu 0.99 mg% im Durchschnitte und in der Schleimhaut den Ammoniak-N zu 4.04 mg% und den Harnstoff-N zu 0.83 mg% durchschnittlich.

II. HAUPTVERSUCH.

Blut: Im Hauptversuche stieg nach der Durchblutung der Ammoniakwert von 0.99 mg% bis auf 4.66 mg%, während der Harnstoffwert von 48.08 mg% bis auf 27.67 mg% fiel. Also betrug der neugebildete Ammoniak-N im Blute 3.67 mg% gegen 2.07 mg% im Kontrollversuche. Da der Harnstoff ein Sekretionserreger ist, dürfte der Magen bei der Durchblutung mit dem Harnstoffe gesteigert tätig sein, wodurch die Ammoniakbildung in der Magenwand befördert werden muss. Der verlorengegangene Harnstoff-N im Blute war im Hauptversuche beträchtlich grösser als im Kontrollversuche. Der erstere betrug nämlich 20.41 mg% gegen 2.24 mg% des letzteren. Obwohl man annehmen darf, dass das Ammoniak, welches im durchgeströmten Blute vermehrt gefunden wurde, total durch die ureatische Wirkung der Magenschleimhaut unter Verbrauch des Harnstoffes entstanden war, war die Menge gegenüber dem verschwundenen Harnstoff zu gering. Das Defizit des Harnstoffes muss also im Magensaft und in der Magenwand gesucht werden.

Mageninhalt: Im Mageninhalt fand ich den Ammoniak-N durchschnittlich zu 14.63 mg% und den Harnstoff-N durchschnittlich zu 0.14 mg%. Die Sekretionserreger, wie Alanin, Histamin und Leucin, werden bei der Durchblutung teilweise in den Magensaft mitsezerniert. Dies ist aber beim Harnstoff wahrscheinlich nicht der Fall, oder wenn es der Fall ist, muss seine Ausscheidung ganz minimal sein, weil die Menge des Harnstoffes im Mageninhalt im Hauptversuche fast gleich seiner Menge im Kontrollversuche ist. Die Menge des Ammoniak-N war im Hauptversuche fast dreifach so gross wie im Kontrollversuche. Inoue fand den Ammoniak-N durchschnittlich zu 11.68 mg% im Magensaft, welcher aus dem Kleinhirn nach Fleischfütterung sezerniert wurde. Schon früher fand auch ich den Ammoniak-N durchschnittlich zu 13.4

TABELLE II.

2. Hauptversuche.

Nr.	Geschlecht.	K.G. (kg)	Menge d. + zugesetzt. U (ca. mg)	Menge d. Blut. (ccm)	Druck in Hg-Säule (mm)	Durch- blutungs- dauer (et)	Blut				Mageninhalt.				Muskelschicht				Schleimhaut- schicht			
							NH ₃ -N mg%		+ U-N mg%		Menge (ccm)	NH ₃ -N mg%	+ U-N mg%	Menge (ccm)	NH ₃ -N mg%	+ U-N mg%	Menge (ccm)	NH ₃ -N mg%	+ U-N mg%			
							Diff.		Diff.													
							vor	nach	vor	nach										vor	nach	vor
I	♂	19.2	300	300	20	3	1.23	6.44		58.24	20.26		30	19.32	0	100	13.48	1.68	100	16.32	7.17	
II	♂	13.5	"	"	"	"	0.84	4.48		55.16	52.20		7	15.10		90	4.24	0.51	90	4.24	3.65	
III	♂	22.5	"	"	"	"	1.12	3.64		42.26	14.10		25	14.56	0	120	10.08	0	120	13.49	1.49	
IV	♀	14.1	"	"	"	"	0.56	3.08		44.80	28.38		40	8.12	0.56	105	5.01	1.36	100	5.65	1.73	
V	♀	14.3	"	"	"	"	1.02	8.12		40.42	21.24		15	15.12	0	110	6.37	0	100	6.53	1.54	
VI	♂	9.5	"	"	"	2.5	1.10	2.50		50.41	27.04		45	18.20	0.28	95	4.88	1.20	90	6.36	2.17	
VII	♂	18.5	"	"	23	3	1.12	4.23		45.28	30.16		30	12.04	0	110	4.07	2.07	110	9.45	0.71	
im Durchschnitt							0.99	4.66	(+) 3.67	48.68	27.67	(-) 20.41	27	14.63	0.14	104	6.87	0.97	101	9.54	2.63	

mg% im menschlichen Magensaft, der nach Verabreichung eines stark wirkenden Probetrunks abgesaugt wurde. Also ist es kein seltener Befund, dass das Ammoniak im Magensaft bei gereiztem Zustande in grosser Menge vorgefunden wird, weil der Harnstoff ein Sekretionserreger ist. Auf der anderen Seite darf man nicht unbeachtet lassen, dass das Ammoniak durch die Zerlegung des Harnstoffes in der Magenwand entstehen kann, wenn wirklich in der Magenschleimhaut Urease existiert. Da der Mageninhalt aber in seiner Menge nicht gross war, war die absolute Menge des Ammoniaks im Magensaft ganz gering. Sie betrug in meinen Versuchen durchschnittlich nur 3.95 mg. Also muss das Defizit des verschwundenen Harnstoffes in der Magenwand gesucht werden.

Muskelschicht und Schleimhaut: In den beiden Schichten war der Ammoniakwert ungefähr doppelt so gross wie im Kontrollversuche. Die Herkunft, nämlich: ob das Ammoniak als ein Stoffwechselprodukt der Gewebe durch Arbeitsleistung entstanden war, oder ob das Ammoniak in der Magenwand aus Harnstoff umgewandelt wurde, blieb auch unentschieden. In allen Fällen war das Ammoniak der absoluten Menge nach zu klein, um das Defizit auszufüllen. Der Harnstoff wurde in der Muskelschicht in ganz geringer Menge wie im Kontrollversuche, aber in der Schleimhaut etwa in der doppelten Menge des Kontrollversuchs vorgefunden. Immerhin aber war die absolute Menge des gefundenen N ganz gering.

SCHLUSSBETRACHTUNG.

Eigentlich ist die Aufgabe des Ammoniaks im Blute noch nicht erklärt. Parnas (1924, 1925) konnte keine Ammoniakbildung im Blute aus Harnstoff nachweisen. Also steht wenigstens soviel sicherlich fest, dass der Vorgang, der den Harnstoff während der Durchblutung im Blute in beträchtlicher Menge verloren gehen liess, in der Magenwand stattfand. Bezüglich des Ammoniaks, welches in dem Durchblutungsversuche im Blute vermehrt gefunden wurde, ist die Erklärung nicht einfach. Das Ammoniak wird von verschiedenen Substanzen in den verschiedenen Organen bald bei der Selbstverdauung, bald bei der Durchblutung gebildet (György u. Röthler; 1927, Borstein u. Roesé; 1929,

Embden; 1929). Es ist also nicht ausgeschlossen, dass ähnliche chemische Vorgänge in den Magendrüssen vor sich gehen. Bei Durchblutungsversuchen beobachtete Ikebe tatsächlich, dass das Ammoniak unter Zersetzung des *l*-Leucins in der Magenwand gebildet wurde. Also kann man nicht annehmen, dass das ganze Ammoniak in meinen Versuchen nur aus dem Harnstoffe durch ureatische Wirkung gebildet wurde. Hinsichtlich des Schwundes des Harnstoffes möchte man aber zuerst die ureatische Wirkung in der Magenschleimhaut annehmen, worüber von Luck (1924) schon einiges mitgeteilt wurde. Wenn aber wirklich Urease in der Magenschleimhaut existieren sollte, kann ihre Wirkung jedenfalls nicht kräftig sein, weil die Menge des Ammoniaks, welches bei der Durchblutung des Magens mit Harnstoff neu entstanden war, ganz gering war. Der Harnstoff-N verschwand nämlich in der absoluten Menge von ca. 52 mg, wogegen nur ca. 16 mg Ammoniak-N vorgefunden wurden, wenn die Resultate im Kontrollversuche in Rechnung gezogen wurden. Aus dem Resultate lässt sich annehmen, dass der Harnstoff zum grossen Teile in der Magenschleimhaut in andere Substanzen umgewandelt wurde, ohne Ammoniak zu bilden.

LITERATUR.

- Bornstein, A. u. Roese, H. F. (1929): *Biochem. Zeitschrift*, **212**, 127.
 Embden, G. u. H. Schumacher (1930): *Pflügers Arch.* **223**, 487.
 György u. Röthler (1927): *Biochem. Zeitschrift*, **187**, 194.
 Ikebe, K. (1933): *The Journal of Biochemistry*, **17**, 275.
 Inoue, K. (1929): *Nagasaki Igakkwai Zassi*, **7**, 984.
 Luck, James Murray (1924): *The Biochemical Journal*, **18**, 1227.
 Matsuoka, Y. (1933): *The Journal of Biochemistry*, **17**, 267.
 Parnas, J. K., Mozolowski, W. u. Lewinski, W. (1927): *Biochem. Zeitschrift*, **188**, 15.
 Parnas, J. K. u. Heller (1924): *Biochem. Zeitschrift*, **152**, 1.
 Parnas, J. K. u. Heller (1925): *Biochem. Zeitschrift*, **155**, 247.
 Sumida, S. u. Hongo, Y. (1930): *Nagasaki Igakkwai Zassi*, **8**, 918.
 Van Slyke Cullen (1914): *The Journal of biolog. Chemistry*, **19**, 211.
 Warburg, O., K. Posener u. Negelein, E. (1924): *Biochem. Zeitschrift*, **152**, 309.
 Yoshida, Y. (1931): *Nagasaki Igakkwai Zassi*, **9**, 10005.
 Yoshida, Y. (1933): *Nagasaki Igakkwai Zassi*, **17**, 261.
 Yoshida, Y. u. Sumida, S. (1933): *Nagasaki Igakkwai Zassi*, **11**, 270.

ÜBER DEN SCHWEFELGEHALT DES PANKREAS- BLUTES UND DER THORACICUSLYMPHE.

II. Mitteilung.

VON

SHIRO KUMAMI

(Aus dem physiologischen Institut der medizinischen Fakultät
zu Nagasaki. Direktor: Prof. Dr. D. Ogata.)

(Eingegangen am 9. Februar 1934)

I. EINLEITUNG.

Der Schwefel und das Insulin haben grosse Ähnlichkeit in ihren Wirkungen; sie üben nämlich auf den Kohlenhydratstoffwechsel einen starken Einfluss aus, haben besonders fast die gleiche blutzuckererniedrigende Kraft, usw. Auf der anderen Seite ist es nach den Versuchen von vielen Chemikern klar, dass das Insulin in seinem Molekül eine relativ grosse Menge von Schwefel enthält. Seit der Aufklärung dieser Tatsachen haben viele Forscher ihre Aufmerksamkeit auf den Zusammenhang zwischen Insulin und Schwefel gerichtet. 1928 behauptete Campanacci, dass die Beziehung des Schwefels zum Insulin der des Jods zum Thyroxin gleichzusetzen ist, und dass das Pankreas eine bedeutsame Rolle im Schwefelstoffwechsel spielen muss. Seitdem sind sehr zahlreiche Untersuchungen über diese Beziehungen angestellt worden, und die biologische Bedeutung des Schwefels wurde als besonders wichtig erkannt.

Im vorigen Jahre bestimmte Verfasser den Schwefelgehalt des arteriellen bzw. venösen Blutes des Pankreas und zeigte, dass der Schwefelgehalt des venösen Blutes immer grösser als der des arteriellen ist, und dass dieser Unterschied sich in der Insulininkreationsperiode vergrössert; aus seinen Resultaten vermutete er wie Nitzescu, Georgescu, Cohane u.a., dass die Quelle dieser Schwefelzunahme des Pankreasblutes wahrscheinlich in der Insulinvermehrung liegt, und dass die Insulininkretion der Bauch-

speicheldrüse wenigstens zum Teil direkt auf der Blutbahn ausgeführt wird.

Nun ist es eine von vielen Autoren z.B. Clark, Britton, Pollack, Grafe, Meythaler, Kurosawa usf. klargestellte Tatsache, dass der Traubenzucker ein physiologischer Erreger der Insulinabgabe des Pankreas ist, und weiter konnte Kurosawa, ferner auch Zunz und Barre, zeigen, dass der Insulingehalt des Blutes sich nach Traubenzuckerinjektion vermehrt.

Also bietet die Untersuchung auf den Schwefelgehalt des Blutes nach Traubenzuckerinjektion ein grosses Interesse.

Ferner steht fest, dass die Innersekretion des Pankreas vom N. vagus beherrscht wird; und Hoshi, sowie auch Zunz und Barre, bemerkten schon die Insulinvermehrung im Blute nach Reizung des N. vagus.

Heutzutage stehen die lymphogene und die hämatogene Theorie in Bezug auf den Resorptionsweg des Insulins aus dem Pankreas einander gegenüber, wobei die erstere von besonders vielen Forschern anerkannt wird. Aber Muto (1927) stellte in seinen Versuchen fest, dass das Insulin auf beiden Wegen, nämlich sowohl durch den Ductus thoracicus als auch durch die Pankreasvenen resorbiert wird, und dass durch die letzteren eine grössere Menge vom Insulin abgeführt wird.

Zu der Klärung dieser Frage einen Beitrag zu liefern, ist der Zweck der nachstehenden Untersuchungen. Aufgrund obiger Angaben dürfte die Schwefelgehaltbestimmung der Thoracicuslymphe unter verschiedenen Zuständen bedeutungsvoll und interessant sein, und von diesem Gesichtspunkt aus versuchte Verfasser die Schwefelgehaltsveränderungen des Blutes bzw. der Lymphe festzustellen: ob nämlich die Schwefelgehaltsvermehrung in der Insulininkreationsperiode nur im Pankreasvenenblute oder auch in der Brustganglymphe beobachtet wird.

II. METHODIK DER VERSUCHE.

Zur Bestimmung des Schwefelgehalts des Blutes benutzte Verfasser ganz das gleiche Material, die gleiche Form der Narkose, der Operation und der Bestimmungsmethodik wie in der 1.

Mitteilung. Die folgende Beschreibung beschränkt sich also nur auf die Lymphe.

A. Versuchsmaterial. Zum Versuche dienten erwachsene, gesunde, mittelgrosse (über 8.0 kg), über 24 Stunden lang gehungert habende Hunde.

B. Narkose und Operation. Die Tiere wurden mit Morphinum hydrochloricum (1 ccm der 3%igen Lösung pro Kilogramm Körpergewicht) subkutan vorbehandelt; zur Vermeidung der Unruhe während der Operation, kombinierte Verfasser nur in einigen wenigen Fällen leichte Ätherinhalation. 30 Minuten nach der Vorbehandlung fesselte man den Hund auf Rückenlage und legte nach der von Yanagawa modifizierten Heidenhainschen Methode seinen Brustgang bloss, in welchen eine gläserne Kanüle eingebunden wurde. Die aus der Lymphfistel abfliessende Lymphe wurde am Anfang des Versuches weggeworfen. Nachdem die Abflussgeschwindigkeit der Lymphe fast regelmässig geworden war (meistens nach über 30 Minuten), wurde die Lymphe stündlich in einem graduierten Reagenzgläschen, welches im voraus eine kleine Menge von Nat. Citrat-Pulver (20 mg pro 10 ccm Lymphe) enthielt, gesammelt.

C. Versuchsmethodik. Es wurde der Gesamtschwefelgehalt in 10 ccm Lymphe von jeder Stundenmenge durch die gleiche Methode, die bei der Blutschwefelbestimmung benutzt wurde, gemessen.

III. VERSUCHSERGEBNISSE.

A. Schwefelgehalt des Blutes 1 Stunde nach Traubenzuckerinjektion.

Nach der Injektion von Traubenzucker (5 ccm einer 20%igen Lösung pro Kilogramm Körpergewicht), liess man den Hund 60 Minuten lang in diesem Zustand verbleiben, dann nahm man gleichzeitig je ca. 15 ccm Blut aus der linken Carotis und den Pankreatikoduodenalvenen, und bestimmte die Mengen des Gesamtschwefels in je 10 ccm von beiden Blutmengen. Die Injektionsgeschwindigkeit war langsam, und man war bestrebt die Geschwindigkeit möglichst gleich zu erhalten.

TABELLE I.

(Schwefelgehalt des Blutes 1 Stunde nach Traubenzuckerinjektion.)

Datum (1933)	Tier Nr.	Körper- gewicht (kg) u. Geschl.	Gesamtschwefel in Milligramm pro 100 ccm Hundeblut		
			P	C	Differenz (P-C)
12/X	1	8,30 ♀	9,16	9,08	0,08
14/ „	2	4,30 ♂	9,07	8,01	1,06
23/ „	3	6,50 ♀	9,02	8,54	0,48
24/ „	4	12,00 ♂	10,61	9,88	0,73
25/ „	5	7,50 ♀	10,88	9,93	0,95
26/ „	6	8,20 ♂	9,75	8,98	0,77
Durchschn.		7,80	9,75	9,07	0,68

P: Pankreasvenenblut; C: Carotisblut

Verfasser berichtete in der I. Mitteilung, dass im normalen Zustand der Unterschied des Schwefelgehaltes zwischen dem arteriellen und venösen Blute des Pankreas 0,20 mg beträgt. Wie man aus obiger Tabelle ersieht, wird mit Ausnahme von Nr. 1 diese Differenz durch Traubenzuckerinjektion deutlich vergrößert, d.h. die Differenz zwischen beiden Gruppen betrug durchschnittlich um 0,68 mg, der Schwefelgehalt vermehrt sich also im Verhältnis von 1:2,4.

Diskussion.

Campanacci, Koehler, Sato u.a. studierten schon den Schwefelstoffwechsel im Körper nach Traubenzuckerinjektion; und nach Koehler vermehrt sich beim Diabetiker der Neutralschwefelgehalt des Blutes durch Traubenzuckerinjektion, während er sich beim Gesunden im Gegenteil vermindert.

Libschitz, Watanabe und Kurokawa bemerkten bei ihren Versuchen, in denen sie die Blutverdünnungen nach Injektion 25%iger Traubenzucker-Ringerlösung untersuchten, Blutverdünnung durch salz- und eiweissarmes Gewebswasser als Folge der Infusion.

Aber nach der Arbeit von Nonnenbruch und Szyszka sind die Schwankungen in den einzelnen Blutwerten nach Zucker-

infusion nicht konstant.

In meinen Resultaten steigt nun, wie aus obiger Tabelle ersichtlich, der Schwefelgehalt des Pankreasvenenblutes nach der Zuckerinjektion deutlich an. Vergleicht man die Schwefelgehaltzunahme des Blutes in meinen obigen Versuchen mit der durch Traubenzuckerinjektion hervorgerufenen Insulingehaltzunahme des Blutes, die von Zunz, Barre, London und Kotschneff u.a. beobachtet worden ist, so findet man leicht zwischen beiden eine Übereinstimmung, und nach meiner Meinung stammt diese Schwefelzunahme vom Insulinschwefel her. Ich glaube, dass die obigen Resultate meiner Meinung, nämlich der, dass das Insulin wenigstens zum Teil direkt in die Pankreasvenen ausgeführt wird, eine weitere Bestätigung geben.

B. Schwefelgehalt der Thoracicuslymphe.

1. Schwefelgehalt der Thoracicuslymphe des hungernden Hundes.

Über den Schwefel in der Lymphe gibt es leider in der Literatur nur einen Bericht von Meyer-Bisch und Günther, die aber ihre genauen Resultate nicht angaben.

TABELLE II.
Gesamtschwefelgehalt in 100 cem der Thoracicuslymphe des hungernden Hundes.

Datum (1933)	Tier Nr.	Körper- gewicht (kg) u. Geschl.	0.5-1.5	1.5-2.5	2.5-3.5	3.5-4.5	4.5-5.5	Durchschn.
			Stunde nach der Operation					
28/X	7	14,30 ♀	8,65	8,77	8,68	8,71	8,62	8,69
31/ „	9	11,50 ♂	7,90	7,75	7,83	7,90	7,85	7,85
1/XI	11	20,00 ♂	8,52	8,64	8,68	8,59	8,67	8,62
19/XII	12	8,00 ♂	7,07	7,05	6,96	7,03	7,10	7,04
Durchschn.		13,45	8,04	8,05	8,04	8,06	8,06	8,05

Wie Tabelle II zeigt, schwankt der Schwefelgehalt der Thoracicuslymphe individuell in ziemlich starkem Grad. Der Wert beträgt 7,04–8,69 mg%, durchschnittlich 8,05 mg%, und im Vergleich mit dem des Blutes (8,89 mg%) liegt er etwas niedriger.

Weiter beobachtet man zeitliche Schwankungen des Lymphschwefelgehaltes, die aber nur sehr leicht sind und bis 6–7 Stunden nach der Operation 0,15 mg nicht überschreiten.

2. *Schwefelgehalt der Thoracicuslymphe nach Traubenzuckerinjektion.*

Zu Beginn der zweiten Stunde spritzten wir dem Hunde mit der gleichen Vorsicht wie bei der Blutschwefelbestimmung den Traubenzucker (5 ccm einer 20%igen Lösung pro Kilogramm Körpergewicht) in die Femoralvenen ein.

TABELLE III.
Schwefelgehalt in 100 ccm der Thoracicuslymphe nach
Traubenzuckerinjektion.)

Datum (1933)	Tier Nr.	Körper- gewicht (kg) u. Geschl.	0.5–1.1	1.5–2.5	2.5–3.5	3.5–4.5	4.5–5.5
			Stunde nach der Operation				
30/X	8	11,00 ♂	8,26	9,35	8,50	8,33	8,55
6/XI	12	16,20 ♂	8,52	8,83	3,97	8,66	8,99
7/ „	13	9,50 ♀	8,12	8,67	8,58	8,33	8,31
9/ „	14	9,00 ♂	8,40	8,62	9,02	8,57	8,49
4/XII	15	10,00 ♂	7,84	7,90	8,01	7,82	7,77
5/ „	16	9,00 ♀	8,71	8,91	9,21	8,71	8,60
21/ „	24	12,90 ♂	7,95	8,19	8,09	8,31	7,97
Durchschn.		11,86	8,24	8,64	8,61	8,40	8,38

Wie man aus obiger Tabelle ersieht, ruft in den meisten Fällen die Injektion von Traubenzucker eine mässige Zunahme des Schwefelgehaltes in der Lymphe hervor, die 1–2 Stunden nach der Injektion maximal und dann wieder niedriger wird. Die Schwefelgehaltzunahme beträgt 0,12–1,09 mg, durchschnittlich 0,41 mg an der 1-Stundenlymphe und 0,37 mg an der 2-Stundenlymphe nach der Injektion. Bei der 3-Stundenlymphe wird die Schwefelgehaltvermehrung auch in den meisten Fällen, besonders deutlich bei Nr. 13, 14 und 24, beobachtet. In der 4-Stundenlymphe vermindert sich aber meistens der Schwefelgehalt auf beinahe denselben Wert wie vor der Injektion; und nur bei Nr. 8 und 12 bemerkt man

eine zweite Schwefelgehaltzunahme.

Ferner untersuchte Verfasser zur Kontrolle die Schwefelgehaltsveränderungen der Thoracicuslymphe nach Kochsalzinfusion (5 ccm einer 10%igen Lösung pro Kilogramm Körpergewicht) zu Beginn der zweiten Stunde.

TABELLE IV.

Schwefelgehalt in 100 ccm der Thoracicuslymphe nach Kochsalzinjektion.)

Datum (1933)	Tier Nr.	Körper- gewicht (kg) u. Geschl.	0.5-1.5	1.5-2.5	2.5-3.5	3.5-4.5	4.5-5.5
			Stunde nach der Operation				
13/XII	19	10,30 ♂	8,47	8,15	8,38	8,39	8,48
20/ „	23	11,00 ♀	8,36	7,75	7,87	7,99	8,14

Wie Tabelle IV lehrt, sinkt der Lymphschwefelgehalt nach der Kochsalzinfusion rasch ab und steigt dann allmählich wieder bis zum Anfangsniveau.

3. Schwefelgehalt in der Lymphe des Hundes, bei welchem der *N. vagus* gereizt wurde.

Vor Anlegung der Lymphfistel hatten wir den rechten *N. vagus* am Halse durchgeschnitten und reizten zu Beginn der zweiten Stunde seinen peripheren Stumpf 2-4 Minuten lang mit dem Induktionsstrom (R. A. 10 cm, Trockenelement 1,5 V.).

TABELLE V.

Schwefelgehalt in 100 ccm der Lymphe des Hundes, bei welchen der *N. vagus* gereizt wurde.

Datum (1933)	Tier Nr.	Körper- gewicht (kg) u. Geschl.	Rei- zungs- dauer (Min.)	0.5-1.5	1.5-2.5	2.5-3.5	3.5-4.5	4.5-5.5
				Stunde nach der Operation				
7/XII	17	15,50 ♂	2	8,35	8,80	8,44	8,33	8,29
11/ „	18	10,00 ♂	3	8,39	8,68	8,38	8,43	8,47
14/ „	20	12,00 ♂	3	7,09	7,33	7,05	6,98	6,97
15/ „	21	15,00 ♂	4	7,34	7,59	7,40	7,39	7,40
22/ „	25	8,50 ♀	4	8,12	8,49	8,13	8,03	8,13
Durchschn.		12,20	3,2	7,86	8,18	7,88	7,83	7,87

Wie aus Tabelle V ersichtlich, steigt der Schwefelgehalt der 1-Stundenlymphe nach der Reizung um 0,24–0,45 mg, im Durchschnitt um 0,32 mg, im Vergleich mit der Lymphe, die vor der Reizung gesammelt wurde. Schon an der 2-Stundenlymphe stellt sich der Unterschied des Schwefelgehaltes gegen den der Anfangslymphe im normalen Schwankungsbereich wieder her; und späterhin bemerkt man keine grossen Schwankungen mehr.

4. *Diskussion.*

Bainbridge, Kumagai und Osato usw. haben bereits hintereinander eingehende Arbeiten veröffentlicht, die die Existenz inniger Beziehungen zwischen der Menge bzw. dem Fermentgehalt der Thoracicuslymphe einerseits und der Pankreasfunktion andererseits nachwiesen. Und Verfasser erwähnte schon in der Einleitung, dass die lymphogene Resorptionstheorie heute von vielen Autoren angenommen ist, dass der rechte N. vagus eine sehr grosse Rolle in der Kontrolle der Insulinabgabe spielt, und weiter dass der Traubenzucker ein physiologischer Erreger der Insulinabgabe ist. Suzuki wies nach, dass die hypertonen Lösungen von Traubenzucker und Kochsalz die Pankreassaftsekretion abschwächen; und über die Veränderungen der Lymphbestandteile sind ausführliche Untersuchungen von Cohnstein, Meyer-Bisch und Günther vorhanden.

Andererseits sind diese zwei Mittel Lymphagoga von der sog. zweiten Ordnung nach Heidenhain, und so vermehrt sich der Lymphfluss aus dem Ductus thoracicus nach Injektion dieser Mittel. Die Wirkungen dieser Mittel, besonders des Traubenzuckers, auf das Pankreas sind also sehr verwickelt.

Weiter ist es unleugbar, dass die Lymphe, die in den Ductus thoracicus einströmt, nicht nur aus Lymphe vom Pankreas besteht, sondern auch aus der, die von Leber, Nieren und Nebennieren ausströmt, wo nach Loeper, Garcin, Lesure, Lurice, Iesaka u.a. Regulationszentren des Schwefelstoffwechsels nachgewiesen worden sind.

Iesaka wies nach, dass die Regulation des Schwefelstoff-

wechsels in solchen Zentren durch die N. vagi und N. sympathici ausgeführt wird, und dass durch die Vagi die Schwefelkonzentration des Blutes herabgesetzt, durch die Sympathici hingegen gesteigert wird.

Nach meinen Versuchen aber stieg der Schwefelgehalt der Lymphe nach der Reizung des rechten N. vagus an. Vergleicht man diese Schwefelgehaltzunahme mit den Schwefelgehaltsveränderungen nach Traubenzucker- und Kochsalzinjektion, so ergibt sich daraus die Folgerung, dass die Quelle dieser Schwefelgehaltzunahme an anderen Orten als Leber, Niere und Nebenniere liegen muss.

Aus obigen Beschreibungen ist es sehr wahrscheinlich, dass diese Schwefelzunahme ihre Quelle im Insulinschwefel haben dürfte. Doch zeigen die zeitlichen Verhältnisse der Schwefelgehaltsveränderung in der Thoracicuslymphe nach Traubenzuckerinjektion ziemlich starke Schwankungen und stimmen nicht mit den Aktionsströmen des Pankreas überein, die von Germann, Barr, Ochi (in unserem Institut) und vielen anderen nachgewiesen worden sind. Die Ursache dieser Unstimmigkeit liegt vielleicht in den komplizierten Wirkungen des Traubenzuckers auf das Pankreas, und ferner in der gänzlichen Ableitung der Thoracicuslymphe nach ausserhalb des Körpers. usw.

In kurzen Worten: In der Insulininkretionsperiode vermehrt sich gleicherweise der Schwefelgehalt des Pankreasblutes und der der Thoracicuslymphe. Und es scheint mir, dass diese Schwefelgehaltzunahme infolge der Inkretionssteigerung stattfindet, und dass die Insulininkretion auf beiden Wegen, nämlich durch die Lymph- sowie die Blutbahn ausgeführt wird.

Ob der grössere Teil des Insulinabflusses durch die Pankreasvenen vor sich geht, wie Muto behauptet, kann man auf Grund der obigen Resultate nicht entscheiden, und bleibt bis auf weitere Versuche dahingestellt.

IV. ZUSAMMENFASSUNG.

Die Ergebnisse, die Verfasser aus seinen Experimenten beim

Hund gewinnen konnte, lassen sich kurz folgendermassen resümieren:

1. Der Gehalt an Gesamtschwefel im Pankreasvenenblut steigt nach Traubenzuckerinjektion deutlich an.

2. Auch der Gesamtschwefelgehalt in der Thoracicuslymphe steigt nach Traubenzuckerinjektion an kehrt aber nach einer bestimmten Zeit wieder zum normalen Wert zurück.

3. Die Vagusreizung hat gleicherweise eine Steigerung zur Folge.

4. Verfasser ist der Meinung, dass diese Zunahme des Gesamtschwefelgehaltes im Pankreasvenenblut bzw. in der Thoracicuslymphe wenigstens zum Teil infolge der Inkretionssteigerung stattfindet. Er vermutet also, dass das Insulin auf beiden Wegen, nämlich durch die Blut- und auch durch die Lymphbahn, abgeführt wird.

LITERATUR.

- Bainbridge (1905): *Jl. Physiol.*, **32**, 1.
 Britton (1925): *Americ. Jl. Physiol.*, **74**, 291.
 Campanacci (1928): *Zit. nach Rona's Berichte*, **43**, 408.
 Clark (1924): *Jl. Physiol.*, **58**, 294.
 „ (1925): *ebenda*, **59**, 466.
 Cohane (1932): *Cpt. rend. soc. biol.*, **110**, 644.
 Cohnstein (1895): *Pfl. Arch.*, **59**, 508.
 „ (1895): *ebenda*, **60**, 291.
 „ (1896): *ebenda*, **62**, 58.
 Germann u. Barr (1927): *Americ. Jl. Physiol.*, **82**, 733.
 Grafe u. Meythaler (1927): *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, **125**, 181.
 Heidenhain (1891): *Pfl. Arch.*, **49**, 209.
 Hoshi (1926): *Tohoku Jl. exp. Med.*, **7**, 446.
 „ (1926): *ebenda*, **7**, 442.
 Isaka (1930): *Keio Igaku*, **10**, 1989.
 Koehler (1928): *Jl. biol. Chem.*, **78**, 70.
 Kumagai u. Osato (1920): *Tohoku Jl. exp. Med.*, **1**, 153.
 Kumami (1933): *Jl. Biochem.*, **17**, 423.
 Kurosawa (1930): *Nihon Naika Gakkai Zassi*, **18**, 184.
 Libschitz (1920): *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, **85**, 359.
 Loeper, Garcin u. Lesure (1927): *Cpt. rend. soc. biol.*, **96**, 1107.
 London u. Kotschneff (1931): *Pfl. Arch.*, **228**, 533.
 Lurice (1928): *Endocrinology*, **12**, 84.

- Meyer-Bisch u. Günther (1925): Pfl. Arch., **209**, 81.
" " (1925): ebenda, **209**, 92.
" " (1925): ebenda, **209**, 107.
Muto (1927): Nihon Byorigakkai Zassi, **17**, 294.
Nitzescu u. Georgescu (1932): Cpt. rend. soc. biol., **111**, 343.
Nonnenbruch u. Szyszkä (1920): Arch. exp. Path. u. Pharm., **86**, 281.
Ochi (1933): Nagasaki Igakkai Zassi, **11**, 1614.
Pollack (1927): Kl. Wochenschr., **6**, 1942.
Sato (1930): Seikai Zassi, **49**, 1.
Suzuki (1928): Nihon Shokakibyō Gakkai Zassi, **27**, 281.
Watanabe u. Kurokawa (1929): Tohoku Jl. exp. Med., **13**, 324.
Yanagawa (1917): Jl. Pharm. exp. Therap., **9**, 75.
Zunz u. Barre (1927): Cpt. rend. soc. biol., **96**, 193.
" " (1927): ebenda, **96**, 421.

ÜBER DEN WAHREN GEWEBSZUCKER UND DAS GLYKOGEN, INSBESONDERE ÜBER DIE MIKROBESTIMMUNG DERSELBEN.

VON

NIRAICHI DOI.

(Aus dem Biochemischen Laboratorium des Präfektur-Hospitals zu Kobe.
Leiter: Dr. M. Takeda).

(Eingegangen am 10. Februar 1934)

I. EINLEITUNG.

Es ist kaum nötig zu erwähnen, dass im Interesse der biochemischen Forschung die Bestimmung des freien Zuckers sowie des Glykogens in den Geweben und Organen von grosser Wichtigkeit ist. Unter den zur Glykogenbestimmung üblichen Methoden finden sich die Methode nach Pflüger und einige ihrer Modifikation, vor allem aber die Methode von Iwasaki-Mori und von Takahata-Kume. Diesen Methoden weisen aber gewisse Mängel auf. Es bedarf z.B. einer ziemlich grossen Menge des Untersuchungsmaterials. Oder an den Methoden haftet die besondere Unzulänglichkeit, die darin besteht, dass es schwer ist die reduzierenden Substanzen ausser dem Zucker dabei nicht mit einzurechnen, weshalb sich ergibt, dass der gefundene Wert des Glykogens stets etwas höher als der wirkliche ist.

Bezüglich der Bestimmungsmethode für den wahren Gewebszucker hat man heute nur die einzige Arbeit von Nakamura, der sich zur Digestion des zu untersuchenden Gewebes des aber an sich an reduzierenden Substanzen reichen Papains bediente. Dieser Umstand kann sehr leicht zu Fehlern bei der Bestimmung führen oder auch oft eine Eiweissverdauung, die innerhalb kürzester Frist stattfinden soll, schwierig machen. Bei einer langfristigen Digestion des Gewebes kann sogar eine unerwünschte Spaltung des Glykogens und der Glukose durch Gewebsfermente stattfinden. Diese Fehlerquellen bedingen natürlich bei der Bestimmung des Glykogens sowie des wahren Zuckers im Gewebe unzuverlässige Re-

sultate. Trotzdem verfügen wir, wie gesagt, bisher allein über die viel zu wünschen übrig lassende Methode von Nakamura, was mich veranlasst hat, die folgende Methode auszuarbeiten und die damit erzielten Resultate zu veröffentlichen.

II. METHODISCHES.

Prinzip: Ein Stück des zu untersuchenden Gewebes wird entnommen und gewogen; nach Abkochen des Gewebsstückes mit einer Säure wird dasselbe zerrieben und nochmals erhitzt, wodurch das Gewebsglykogen sämtlich in Zucker umgewandelt wird. Nach dem sorgfältigen Enteiweissen wird die Flüssigkeit einer Gärung unterworfen, und der dabei entstandene Gärungszucker quantitativ bestimmt. Bei dieser Bestimmung handelt es sich nun um die gesamte Zuckermenge, d. h. um die Summe aus dem sich bereits im Gewebe befindenden freien Zucker und dem erst durch Hydrolyse aus dem Glykogen freigewordenen Zucker (Probe I). Andererseits wird ein weiteres Stück desselben Gewebes entnommen und abgewogen. Dieses Gewebsstück wird durch Erhitzen mit Alkalilauge zur Auflösung gebracht, um damit das Glykogen frei zu legen und den gleichzeitig vorhandenen freien Gewebszucker vollständig zu zerstören. Dann wird die ganze Masse mit überschüssiger Säure angesäuert und erhitzt, wodurch die Inversion des Glykogen stattfindet. Hierauf wird der wahre Zuckerwert mit Hilfe der Hefemethode genau festgestellt. Bei dieser Bestimmung handelt es sich um die Menge des auf den Zucker bezogenen Glykogens (Probe II). Zieht man nun von dem gesamten Zuckerwert in der ersten Probe den auf das Glykogen bezogenen Zuckerwert in der zweiten Probe ab, so erhält man den Wert des freien Zuckers im Gewebe. Zu dieser Bestimmung sind die folgenden Reagentien und Apparate erforderlich:

A. Erforderliche Reagentien:

- 1) 44 g/dl H_2SO_4 .
- 2) 4,4 g/dl H_2SO_4 .
- 3) 30,0 g/dl KOH.
- 4) Reagentien zur Enteiweissung:

- a) 10,0 g/dl $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.
- b) 0,5 n NaOH.
- 5) Reagentien für die Zuckerbestimmung nach *Hagedorn-Jensen*.
- 6) Fleischmannsche Hefe.

B. Die Apparate:

- i) Mehrere Reagenzröhrchen aus Jenenserglas von 1,3 cm Kaliber und von 15 cm Länge, auf denen zwei Teilstriche für 5,0 und 10,0 ccm angebracht sind.
- ii) Mehrere Reagenzröhrchen aus Jenenserglas von 1,5 cm Kaliber und von 15 cm Länge, auf denen zwei Teilstriche für 5,0 und 10,0 ccm angebracht sind.

Ausführung: 1) *Bestimmung des gesamten gärbaren Zuckers.*
 Dem durch Verbluten getöteten Tiere wird ein Stück Gewebe entnommen. Dieses wird möglichst schnell mit Hilfe der Torsionswaage in einer Menge von ca. 200–500 mg (die Leber 200–250 mg und die übrigen Gewebe 450–500 mg) abgewogen, ins Röhrchen (i) eingebracht und nach Zusatz von 2,0 ccm 4,4 g/dl. Schwefelsäure im Wasserbade auf 100°C erhitzt. Das Gewebsstück wird danach durch Quetschen mit dem Glasstab zu Brei zerquetscht. Die am Glasstab haftende Gewebsflüssigkeit wird mit destilliertem Wasser restlos ins Röhrchen abgespült. Die ganze Masse wird nun durch Ätzkalilösung neutralisiert und durch weitere schwache Alkalisierung schliesslich in eine klare Lösung verwandelt. Das Röhrchen wird dann mit Wasser bis zu dem Teilstrich von 25,0 ccm auf gefüllt, mit einem Gummistopfen fest verschlossen und gut durchgeschüttelt.

Hierauf werden 5,0 ccm dieser Gewebsflüssigkeit in ein anderes sauberes Röhrchen (i) gebracht, mit 0,5 ccm der 44 g/dl. Schwefelsäure versetzt und 30 Minuten lang im Autoklaven auf 120°C erhitzt, wodurch das Glykogen sämtlich in Zucker umgewandelt wird. Nach völliger Abkühlung wird das Röhrchen aus dem Autoklaven herausgenommen. Nach Zusatz von ca. 10 ccm destilliertem Wasser wird der Inhalt des Röhrchens durch Natronaugelösung neutralisiert und dann weiter noch schwach sauer gemacht. Dieser

Lösung wird nun 1,0 ccm 10,0 g/dl. Zinksulfatlösung zugestzt, worauf sie gut durchgeschüttelt wird. Dann wird dazu noch 1,0 ccm einer 0,5 n NatronlaugeLösung zugesetzt, das Röhrchen mit dem Gummistopfen wieder gut verschlossen, und schliesslich der Inhalt des Röhrchens mehrmals umkehrend durchgeschüttelt. Dadurch erfolgt die Enteiweissung. Hierauf wird das Röhrchen mit destilliertem Wasser bis auf den Teilstrich von 20,0 ccm gefüllt und nochmals gut durchgeschüttelt.

Die Flüssigkeit wird dann in ein anderes sauberes Reagenzröhrchen (ii) filtriert. 2,0 ccm Filtrat (entsprechen gerade einer 1/50 Menge des bei der Bestimmung in Frage kommenden Gewebes) werden entnommen. Mit diesen erfolgt die Bestimmung des Gesamtreduktionswertes nach *Hagedorn-Jensen*. Das dabei noch übrig bleibende Filtrat wird genau auf PH 6 eingestellt. Nach Zusatz von frisch gereinigter Fleischmann-Hefe zu ca. 1% werden 10 ccm desselben in einem Thermostaten bei 32°C eine Stunde lang stehen gelassen und zeitweise geschüttelt. Danach wird die Hefe durch Zentrifugieren völlig abgetrennt, worauf 2,0 ccm der überstehenden Flüssigkeit entnommen werden, in denen die Bestimmung des Restreduktionswertes nach *Hagedorn-Jensen* erfolgt. Zieht man diesen Wert von dem Gesamtreduktionswert ab, so erhält man den Wert für den wahren Zucker, der zugleich auch als gesamter gärbarer Zuckerwert zu bezeichnen ist. Es handelt sich dabei um die Summe des gärbaren Gewebszuckers und des Zuckers vom Glykogen her.

2) *Die Bestimmung des Glykogens:* Genau wie oben wird ein Stück ein und desselben Gewebes abgewogen, in ein Reagenzröhrchen gebracht, nach Zusatz von 1,0 ccm 30 g/dl. KalilaugeLösung einige Minuten im Wasserbade erhitzt und zur völligen Lösung geführt, worauf es weiter eine halbe Stunde im Autoklaven auf 120°C erhitzt wird. Auf diese Weise wird der freie Gewebszucker völlig zerstört und dabei Glykogen befreit. Nach dem Abkühlen werden ca. 15 ccm destilliertes Wasser zugesetzt; die Lösung wird durch Schwefelsäure neutralisiert, das Röhrchen schliesslich mit Wasser bis auf den Teilstrich von 25,0 ccm gefüllt und gut durchgeschüttelt. Hierauf werden 5,0 ccm der Lösung

entnommen und in ein anderes Reagenzröhrchen gebracht, das nach Zusatz von 0,5 cem 44 g, dl Schwefelsäure im Autoklaven erhitzt wird. Das Glykogen wird dadurch vollständig in Zucker umgewandelt. Nach dem Abkühlen der Flüssigkeit erfolgt wie oben das Enteiweissen. Im enteiweissten Filtrat werden der Gesamt-reduktions- und Restreduktionswert ermittelt. Daraus erhält man den wahren Zucker, der zugleich die Zuckermenge von Glykogen her bedeutet. Multipliziert man diesen Wert mit 0,927, so erhält man die Glykogenmenge im Gewebe.

3) *Der wahre Gewebszucker:* Zieht man den Zuckerwert vom Glykogen her in der 2. Probe vom Wert für den gesamten gärbaren Zucker in der ersten Probe ab, so erhält man den Wert für den wahren Gewebszucker.

III. VORVERSUCHE.

1. Um festzustellen ob Glukose durch Erhitzen mit Säure irgend eine Zerlegung erfahren kann, wurde folgender Versuch angestellt:

Eine Reihe von Reagenzröhrchen enthalten je 2,0 cem Schwefelsäure von verschiedener Konzentration. Jedes Röhrchen wird mit 0,2 cem einer 1,0%igen Glukoselösung beschickt. Die gesamten Röhrchen werden dann eine Stunde lang im Autoklaven auf 120°C erhitzt, und in den derartig behandelten Lösungen wird die Glukose bestimmt. Wie aus der Tabelle I ersichtlich ist, erfährt Glukose durch einstündiges Erhitzen mit Schwefelsäure auf 120°C, solange

TABELLE I.

Schwefelsäure		1,0%ige Glukose- lösung cem		Gefundene Glukosemenge	
g/dl	cem			mg	%
		0,2		1,940	
4	2,0	0,2	Erhitzung 1 Stunde lang auf 120°C	1,940	100
5	2,0	0,2		1,940	100
6	2,0	0,2		1,910	98,5
7	2,0	0,2		1,870	96,4

TABELLE II.

1,0%ige Glukoselösung	30 g/dl KOH	Zeit der Erhitzung	Reduktions- wert	Reduktions- wert nach Gärungs- probe
cc	cc		mg	mg
0,3	1,0	100°C 10'	0,082	0,086
0,3	1,0	„ 20'	0,070	0,070
0,3	1,0	„ 30'	0,057	0,048
0,3	1,0	„ 40'	0,044	0,040
0,3	1,0	„ 50'	0,035	0,034
0,3	1,0	„ 60'	0,030	0,031
0,3	1,0	120°C 30'	0,027	0,027

die Konzentration der Schwefelsäure unter 5 g/dl bleibt, keinerlei Zersetzung.

2. Um die Frage zu lösen, ob Glukose durch Kalilauge vollständig zerstört werden kann, wurde der folgende Versuch vorgenommen:

Eine Reihe von Reagenzröhrchen werden je mit 0,3 ccm einer 1,0%igen Glukoselösung und 1,0 ccm einer 30 g/dl KalilaugeLösung beschickt. Das Ganze wird dann ins Wasserbad hineingestellt. Von 10 zu 10 Minuten werden die Proben nacheinander herausgenommen und an jeder Probe wird sofort das Reduktionsvermögen festgestellt. Tabelle II gibt das Resultat anschaulich wieder. Durch Gärungsprobe mit der Hefe war der in der Lösung enthaltene reduzierende Stoff als nicht gärfähig erwiesen. Aus dieser Feststellung ist ohne weiteres ersichtlich, dass es sich hierbei nicht um eine mit der Glukose identische Substanz handelt, da Glukose beim Erhitzen mit Kalilauge schon in kaum länger als 10 Minuten fast vollständig zerlegt werden kann.

3. Um die Frage nach der Möglichkeit der Zersetzung des Glykogens durch Erhitzen mit Kalilauge klar zu stellen, wurde der folgende Versuch gemacht:

In zwei Reagenzröhrchen werden je 0,2 ccm bzw. 0,4 ccm Glykogenlösung gebracht, mit 1,0 ccm einer 30 g d/l Kalilauge-

lösung versetzt und tüchtig erwärmt. Nach erfolgter Inversion des Glykogen durch Ansäuerung wird der Reduktionswert bestimmt. Das Resultat, verglichen mit dem Wert im Kontrollversuche, wird in der Tabelle III angegeben. Aus der Tabelle geht hervor, dass das Glykogen selbst durch Erhitzen mit der 30 g/dl Kalilauge-lösung keine Zersetzung erleidet.

TABELLE III.

Glykogen- lösung (ccm)	30 g/dl KOH (ccm)	Zeit der Erhitzung	durch Zusatz von Säure wird invertiert.	Gefundene Glukosemenge	
				(mg)	(%)
0,2	—	—		0,476	
0,4	—	—		0,956	
0,2	1,0	100°C { 30'		0,484	101,7
0,4	1,0			0,960	100,4
0,2	1,0	120°C { 30'		0,476	100,0
0,4	1,0			0,943	99,2

4. Beziehung der Glykogen-Inversion zur Schwefelsäurekonzentration:

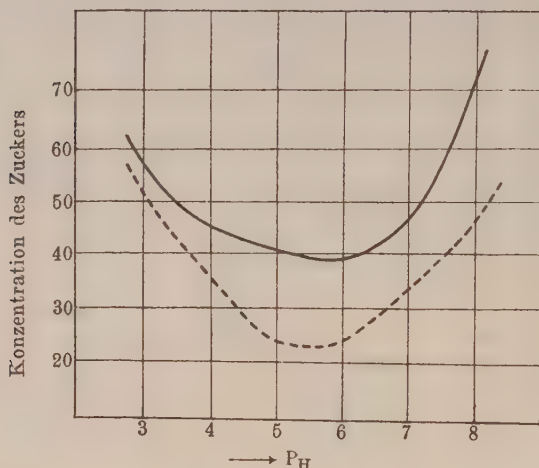
Eine Reihe von Reagenzgläsern werden mit je 5,0 ccm Glykogenlösung und je 0,5 ccm Schwefelsäure verschiedener Konzentration beschickt. Das Ganze wird eine halbe Stunde lang auf 120°C erhitzt. Nach erfolgter Inversion wird der Zucker bestimmt. Daraus ergibt sich, dass durch eine 30 Minuten lange Erhitzung des Glykogens mit Schwefelsäure von einer Endkonzentration wie 2 g/dl–6 g/dl eine vollständige Umwandlung in Zucker erfolgt.

5. Die optimale Wasserstoffionenkonzentration für die Gärung durch Fleischmann'sche Hefe: Die Gärung erfolgt am besten bei Pn 5–6; die folgende Kurve zeigt die Verhältnisse:

6. Vergleich des durch die neue Bestimmungsmethode präzierten Glykogenwertes mit dem Glykogenwertes nach der Alkohol-fällungsmethode. Die Glykogenbestimmung nach der Alkohol-fällungsmethode wird wie folgt ausgeführt:

Aus dem abgewogenen Gewebe wird durch Erhitzen mit 1,0

ccm einer 30 g, dl Kalilaugelösung eine klare Lösung hergestellt. Nach erzielter Zerstörung des freien Zuckers wird die Lösung mit Wasser auf genau 5,0 ccm gebracht. Dazu werden noch 5,0 ccm



Die gestrichelte Kurve zeigt die Konzentration des Zuckers nach der 80 Minuten langen Gärung einer 0,1%igen Glukoselösung bei 32°C. Die ausgezogene Kurve die Konzentration des Zuckers nach der gleichbedingten Gärung des durch Zusatz von Glukose genau auf eine 0,1%ige Zuckerlösung eingestellten ZnSO_4 -Filtrates vom Gewebe. In jeder Probe ist die Fleischmann'sche Hefe zu ca. 0,25% enthalten.

absoluter. Alkohol zugesetzt. Dann wird gut durchgeschüttelt, nach Absetzenlassen des Glykogens scharf zentrifugiert, und die überstehende Flüssigkeit dekantiert. Das Sediment wird nunmehr in Wasser aufgelöst und mit Säure erhitzt, um dadurch das Glykogen sich sämtlich in Zucker umwandeln zu lassen. In dieser Probe erfolgt dann die Zuckerbestimmung nach Hagedorn-Jensen, aus der der Glykogenwert berechnet wird. Die Resultate gehen, im Vergleich zu den durch unsere Methode festgestellten Ergebnissen, aus der Tabelle IV hervor, wobei die beiden Werte weitgehende Übereinstimmung zeigen.

TABELLE. IV.

Organ	Angewandte Menge des Organs mg	Glykogen-Wert nach meiner Bestimmungs- methode		Glykogen-Wert nach der Alkoholfällungs- methode	
		mg	mg%	mg	mg%
Leber	217	4,200	1935	4,230	1940
	218	—	—	—	—
"	221	4,850	2195	4,890	2222
	220	—	—	—	—
"	250	5,150	2060	5,160	2048
	252	—	—	—	—
"	256	5,150	2012	5,190	2018
	257	—	—	—	—
"	255	3,650	1431	3,780	1454
	260	—	—	—	—
"	252	5,250	2083	5,160	2064
	250	—	—	—	—
Muskel	500	2,350	470	2,430	486
	500	—	—	—	—
"	498	4,050	813	4,020	806
	499	—	—	—	—
"	500	3,250	650	3,150	630
	500	—	—	—	—
"	499	2,900	581	2,850	570
	500	—	—	—	—

IV. PRÜFUNG AUF DIE SCHWANKUNG DER BESTIMMUNGSRÉSULTATE.

Um festzustellen, ob während der Bestimmung die Resultate durch die verschiedenen Manipulationen irgend einer Schwankung unterworfen sein mögen, wurden die Experimente wiederholt an Leber und Muskel von ein und demselben Kaninchen gemacht, und sie ergaben, dass sich die Abweichungen der Bestimmungsresultate, wie die Tabelle V illustriert, nur in geringen Grenzen bewegen.

TABELLE V.
(Schwankungsversuch).

		Versuch	Ange- wandte Menge des Organs mg	Gesamt- reduk- tions- wert mg	Restreduk- tionswert mg	Wahre Zucker- wert mg	Gefun- dene Glukose- menge mg%
Leber	Gärbarer Gesamt- zucker	1	225	8,700	2,250	6,450	2867
		2	232	9,000	2,350	6,650	2866
		3	233	8,950	2,350	6,600	2833
		4	243	9,350	2,450	6,900	2840
	Invert- zucker vom Glykogen her	1	220	7,800	4,000	3,800	1727
		2	225	8,000	4,100	3,900	1733
		3	228	8,100	4,200	3,900	1711
		4	231	8,050	4,200	3,950	1710
Muskel	Gärbarer Gesamt- zucker	1	481	7,650	5,000	2,650	551
		2	485	7,700	5,050	2,650	546
		3	496	8,050	5,250	2,800	565
		4	500	8,050	5,250	2,800	560
	Invert- zucker vom Glykogen her	1	492	8,850	6,850	2,000	407
		2	494	8,850	6,850	2,000	405
		3	498	8,950	7,000	1,950	392
		4	500	9,000	7,050	1,950	390

V. ZUSATZVERSUCH.

Zur Prüfung auf die Genauigkeit meiner Bestimmungsmethode wurde der folgende Versuch vorgenommen:

Eine bestimmte Menge der Glukose- und der Glykogenlösung mit einem bekannten Reduktionswert wurde zu einer Organlösung zugesetzt. Der Reduktionswert dieser Lösungen wurde genau ermittelt, und dieser dann mit dem Wert der Organlösung ohne Zugabe verglichen. Aus der Tabelle VI ergibt sich, dass der restliche Wert beim Abziehen des Reduktionswertes für Glukose und Glykogen von dem Wert beim Zusatz von Glukose und Glykogen vollständig mit dem Wert ohne Glukose- und Glykogen-Zugabe zusammenfällt.

TABELLE VI.

		Ange- wandte. Menge des Organs	Zugesetzte Glukose- und Glyko- gen Lösung cem	Gesamtred- uktions- wert mg	Restreduk- tionswert mg	Wahre Zucker wert mg	Gefundene Glukose- menge	
							mg	mg%
Lober	Gärbarer Gesamt- zucker		Z. 0,2			1,650		
			G. 0,2			1,700		
		225		9,850	2,700	7,150		3178
	Invert- zucker von Glykogen her	224	Z. 0,2	11,650	2,750	8,900	7,250	3237
		229	G. 0,2	11,850	2,850	9,000	7,300	3188
		230		8,950	4,400	4,550		1978
		230	Z. 0,2	8,900	4,400	4,500	4,500	1956
		232	G. 0,2	10,650	4,450	6,200	4,500	1940
Muskel	Gärbarer Gesamt- zucker	499		7,550	5,900	1,650		333
		494	Z. 0,2	9,100	5,700	3,400	1,750	354
		498	G. 0,2	9,150	5,800	3,350	1,650	331
	Invert- zucker von Glykogen her	497		8,600	7,200	1,400		281
		492	Z. 0,2	8,500	7,100	1,400	1,400	285
		497	G. 0,2	10,300	7,200	3,100	1,400	281

Z. Glukose.

G, Glykogen.

VI. PARALLELVERSUCH MIT MEINER METHODE UND ANDEREN BESTIMMUNGAMETHODEN.

Es standen hier an ein und demselben Material ausgeführte Parallelversuche zur Verfügung welche das Resultat bei der Bestimmung des Glukose- und Glykogen-Wertes aus dem Wasser-Extrakt des Gewebes und das Resultat nach der auf dem Prinzip der Gewebsverdauung durch Papain beruhenden Nakamura'schen Methode zeigen. Tabelle VII zeigt den Vergleich, wobei I = Bestimmung aus Wasserextrakt, II = Bestimmung auf grund der Verdauung durch Papain, III = meine Methode. Der Freie-Zucker- und der Glykogenwert bei meiner Bestimmungsmethode fielen etwas grösser aus als die Werte bei der I. und II. Methode. Besonders war die Differenz viel grösser im Muskel als in der Leber.

TABELLE VII.

	Organ	Bestimmungs- methode	Angewandte Menge des Organs	Gärbarer Gesamtzucker		Freier Zucker		Invertzucker vom Glyko- gen her		Freier Zucker	Invertzucker vom Glykogen her
	Leber	I II III	mg 221 221 220 220	mg 10,500 10,550 10,750 —	mg% 4751 4774 4842 —	mg 2,375 2,950 — —	mg% 1301 1335 — —	mg — — 7,700 3500	mg% — — 1301 1335	mg% 1301 1335 1342 3500	mg% 3450 3439 — —
1	Muskel	I II III	357 353 496 491	0,600 0,850 1,800 —	168 241 363 —	0,375 0,425 — —	104 120 — —	— — 1,100 224	— — 104 120	104 120 139 224	64 121 — —
2	Leber	I II III	219 219 219 223	6,650 6,750 7,150 —	3037 3082 3265 —	2,525 2,475 — —	1153 1130 — —	— — 4,900 2197	— — 1068 1068	1153 1130 1068 2197	1884 1952 — —
	Muskel	I II III	318 316 488 487	0,850 0,900 2,350 —	267 253 482 —	0,325 0,325 — —	102 103 — —	— — 1,900 390	— — 102 103	102 103 92 390	165 150 — —
3	Leber	I II III	224 225 229 233	5,650 5,800 5,900 —	2522 2578 2576 —	2,400 2,425 — —	1071 1078 — —	— — 3,500 1502	— — 1071 1078	1071 1078 1074 1502	1451 1500 — —
	Muskel	I II III	483 484 499 497	2,950 3,000 4,250 —	611 620 852 —	0,700 0,700 — —	145 145 — —	— — 3,400 684	— — 145 145	145 145 168 684	466 475 — —
4	Leber	I II III	223 221 222 223	8,650 8,500 9,000 —	3876 3846 4054 —	2,925 2,800 — —	1312 1267 — —	— — 6,550 2937	— — 1312 1267	1312 1267 1117 2937	3567 2579 — —
	Muskel	I II III	478 480 491 491	0,950 1,200 1,600 —	199 250 326 —	0,350 0,550 — —	73 115 — —	— — 0,950 193	— — 73 115	73 115 133 193	126 135 — —

Dieser Umstand beruht bei der I. Methode wahrscheinlich auf der unzulänglichen Extraktion dieser Stoffe aus dem Gewebe und bei der II. Methode auf den vielfach infolge der unvollständigen Eiweissverdauung noch zurückgebliebenen Gewebsfetzen. Bei meiner Methode ist aber wesentlich, dass das Gewebe durch die Einwirkung der Säure resp. Lauge vollständig zu einer klaren Lösung geführt wird, und dass die im Gewebe eingeschlossenen Stoffe, d. h. Glukose und Glykogen, vollständig frei gelegt werden, so dass das Resultat bei meiner Methode stets den wahren Gehalt zeigen durfte.

Anhang 1: Die Extraktion des Gewebes bzw. Organs mit dest. Wasser geschieht wie folgt:

Dem Tiere wird ein Stück des Organs entnommen, sobald wie möglich fein zerschnitten, in einem Mörser zerrieben. Davon wird eine bestimmte Menge abgewogen und in ein Reagenzgläschen (i) gegeben. Mit Wasser wird das Ganze auf 25,0 ccm gebracht und gut durchgeschüttelt. Unter gelegentlichem Umschütteln erfolgt die 40 Minuten lange Extraktion im Wasserbade bei 40°C 10,0 ccm. Der Extrakt wird enteiweisst. Der Gesamtreduktionswert wird dann nach Hagedorn-Jensen'scher Methode, und der Restreduktionswert nach der Hefemethode bestimmt. Daraus ergibt sich der wahre Zuckerwert, der gleichzeitig als freier Gewebszucker zu bezeichnen ist. Andererseits werden 5,0 ccm Filtrat mit Säure erhitzt, wodurch das Glykogen vollständig in Zucker umgewandelt wird. Nach dem Enteiweissen werden in dieser Lösung der Gesamt- und der Restreduktionswert ermittelt. Der wahre Zuckerwert, der hierbei als Gesamtmenge des gärbaren Zuckers bezeichnet werden darf, wird aus diesen beiden Werten errechnet. Zieht man nun den Wert des freien Zuckers von diesem Werte ab, so erhält man die Glykogenmenge.

Vorversuch: Da es gedanklich nahe liegt, dass bei der mit destilliertem Wasser erfolgten Extraktion die Temperatur sowie die Zeitdauer eine nicht unwesentliche Rolle spielen, wurde folgender Vorversuch unternommen:

1) *Die Temperatur der Extraktionsflüssigkeit:* Der fein zerriebene Gewebsbrei wird in Reagenzgläsern gleichmässig

verteilt, mit Wasser auf eine bestimmte Menge gebracht, in Wasserbäder verschiedener Temperatur hineingestellt und für eine bestimmte Zeit der Extraktion unterworfen. In jeder Probe wird nun der Gehalt an freiem Zucker und an Glykogen bestimmt. Dabei ergibt sich, dass die Probe bei 40°C, wie die Tabelle VIII illustriert, einen höchsten Wert zeigt.

2) *Die Extraktionszeit:* 2,4 g fein zerriebener Gewebsbrei werden mit Wasser auf 200 ccm gebracht und gut durchgeschüttelt. Der Kolben wird dann in ein Wasserbad bei 40°C hineingestellt und eine Stunde lang tüchtig umgeschwenkt. Aus ihm wird nun eine bestimmte Menge der Flüssigkeit in ein Röhrchen gebracht.

TABELLE VIII.

Temperatur bei der Extraktion	Gärbarer Gesamtzucker			Freier Zucker			Glykogen
	Gesamt-reduktionswert	Rest-reduktionswert	Wahre Zuckerwert	Gesamt-reduktionswert	Rest-reduktionswert	Wahrer Zuckerwert	
C	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%
10°	4567	620	3943	1133	120	1013	2930
20°	4517	613	3904	1192	167	1035	2869
30°	4567	613	3954	1275	240	1035	2919
40°	4667	613	4054	1342	257	1085	2969
50°	4633	620	4013	1300	260	1040	2973
60°	4683	667	4016	1242	267	975	3041
100°	4700	673	4026	1258	283	975	3051

Der freie Zucker und das Glykogen in dieser Lösung werden bestimmt. Wie die Tabelle IX anschaulich macht, findet in kurzer Zeit keine genügende Extraktion statt, hingegen nimmt bei einem zu langen Zeitaufwand der freie Zuckerwert allmählich zu, und der Glykogenwert dementsprechend ab. Zu dieser Zeit lässt sich aber noch kein grosser Unterschied bei den gärbaren Gesamtzuckermengen aufweisen. Eine Extraktionszeit von 40 Minuten halte ich deshalb für angebracht.

Anhang 2: Die Papain-Methode nach Nakamura. Die Bestimmung des freien Gewebszuckers und des Glykogens wurde

TABELLE IX.

Extrak- tionszeit	Gärbarer Gesamtzucker			Freier Zucker			Glykogen
	Gesam- reduktions- wert	Rest- reduktions- wert	Wahrer Zucker- wert	Gesamt- reduktions- wert	Rest- reduktions- wert	Wahrer Zucker- wert	
	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%
Sofort	4783	493	4290	1000	77	923	3367
20'	4850	507	4343	1075	77	998	3345
40'	4950	540	4410	1092	77	1015	3395
60'	4817	507	4310	1092	103	990	3320
90'	4883	553	4330	1108	103	1005	3325
120'	4817	527	4290	1167	117	1050	3240
180'	4883	567	4316	1250	160	1090	3226

bei mir wie folgt durchgeführt:

Eine bestimmte Menge des gründlich zerriebenen Gewebsbreies wird in ein Reagenzröhrchen (i) gebracht; dazu werden 2,0 ccm gereinigter Papainlösung zugefügt. Nach der mit Hilfe eines Glasstäbchens ausgeführten Mischung wird das Röhrchen nunmehr in ein Wasserbad von 40°C hineingestellt, und unter gelegentlichem Umrühren 20 Minuten lang der Verdauung ausgesetzt. Nachher wird mit Wasser genau auf 25,0 ccm eingestellt und gut durchgeschüttelt. In dieser Probe wird wie oben (wie beim Wassereextrakt) der Gehalt an freiem Gewebszucker sowie an Glykogen ermittelt.

Eine einfach durch Auflösen des Papains in Wasser und daran anschliessende Filtration bereitete Papainlösung, ist zur Anwendung deswegen nicht geeignet, weil eine solche Lösung an sich reichlich reduzierende Substanzen enthält. Aus diesem Grunde habe ich in meinem Experimente nur von einer Papainlösung Gebrauch gemacht, welche auf folgende Weise vorher gereinigt worden war:

0,5 g Papain-Merek (1:200) werden in 20 ccm dest. Wasser aufgelöst und filtriert. Diesem Filtrat wird eine ca. 9 fache Menge Alkohol zugesetzt, um damit die Fermente sedimentieren zu lassen. Nach dem erfolgten Ansetzenlassen wird abzentrifugiert. Das

Sediment wird nochmal in 20 ccm dest. Wasser aufgelöst und wiederum mit Alkohol versetzt. Der dadurch entstandene Niederschlag wird schliesslich in 20 ccm dest. Wasser gelöst und abfiltriert.

Vergleichsuntersuchungen dieser gereinigten Papainlösung mit der nicht gereinigten bezüglich der Reduktionskraft wurden dann vorgenommen. Wie Tabelle X anschaulich wiedergibt, enthält die gereinigte Papainlösung nur geringste Mengen von reduzierenden Substanzen. Das Resultat bei der Prüfung auf die Casein-

TABELLE X.

	Reduzierende Substanzen in 1,0 ccm Papainlösung (als Glykose)	
	1% Papainlösung	Gereinigte Papainlösung
Reduzierende Substanzen in 1,0 ccm Papainlösung	mg 3,460	mg 0,870
1,0 ccm Papainlösung wird mit Wasser verdünnt. Zum Enteiweissen werden 10% $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1,0 ccm) u. 1/2 N NaOH (1,0 ccm) zugefügt.	3,140	0,0 ⁰
Nach dem Stehenlassen im Thermostat bei 40°C für 60 Minuten wird wie oben enteiweisst.	3,220	0,050
Der Papainlösung wird H_2SO_4 zu 4 g/dl zugefügt. Nach 30 Minuten langem Erhitzen auf 120°C erfolgt das Enteiweissen wie oben.	4,080	0,460

verdauung dieser beiden Papainlösungen nach dem Verfahren von Fuld-Gross (1906) für die Trypsinbestimmung wies auch auf eine viel stärkere Wirkung der gereinigten Papainlösung hin.

Andererseits wurde eine optimale Temperatur für die Papainverdauung festgestellt, welche bei 40°C als solche erwiesen wurde.

Ferner wurde noch ein Versuch vorgenommen, um festzustellen, ob nicht Glukose sowie Glykogen durch Einwirkung des Papains zerlegt werden können. Teils der Glukose-, teils auch der Glykogenlösung wurde nämlich frisch bereitete gereinigte Papain-

lösung zugefügt. Die Röhrchen wurden für eine bestimmte Zeit bei der optimalen Temperatur stehen gelassen. Nach dieser Frist wurden gleich Glukose- und Glykogengehalt bestimmt, wobei sich ergab, dass weder Zunahme noch Abnahme der Menge stattfand.

Schliesslich wurde die Zeitdauer ermittelt, die für die Einwirkung des Papains auf das Gewebe gerade am besten geeignet ist.

Es wurde Reagenzgläschen mit einer bestimmten Menge des gründlich zerriebenen Gewebsbreis mit einer gleichen Menge der Papainlösung beschickt und sofort ins Wasserbad bei 40°C hineingestellt. Von Zeit zu Zeit wurden die Röhrchen nacheinander herausgenommen und der gärbare Gesamtzucker und der freie Zucker bestimmt. Daraus ergab sich, dass die Menge des gesamten gärbaren Zuckers in allen Zeitabschnitten fast unverändert bleibt, während die freie Zuckermenge mit der Zeit immerhin deutlicher zunimmt, hingegen die Glykogenmenge, entsprechend der gesteigerten Zuckermenge, von Zeit zu Zeit abnimmt. Auf Grund dieser Experimente haben wir nun als geeignetste Zeitdauer für die Papainverdauung des Gewebes 20 Minuten festgestellt (s. Tabelle XI).

TABELLE XI.

	Zeitdauer für die Papainverdauung	Gärbarer Gesamtzucker			Freier Zucker			Glykogen
		Gesamt-reduktionswert	Rest-reduktionswert	Wahrer Zuckerwert	Gesamt-reduktionswert	Rest-reduktionswert	Wahrer Zuckerwert	
		mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	mg%
1	20'	3496	1040	2456	1717	593	1124	1332
	40'	3549	1094	2455	1735	558	1177	1278
	60'	3562	1128	2434	1848	625	1223	1211
	90'	3630	1261	2369	1974	730	1244	1125
	120.	3711	1244	2467	2240	880	1360	1107
2	20'	4118	1335	2783	1968	758	1210	1573
	40'	4091	1318	2773	2114	841	1273	1500
	60'	3978	1267	2711	2289	922	1267	1344
	90'	4063	1362	2701	2535	1105	1430	1271
	120'	3962	1205	2655	2619	1184	1435	1220

VII. DIE VERSUCHSRESULTATE.

Gesunde, ausgewachsene Kaninchen von 2,000–2,300 kg Körpergewicht wurden morgens früh nüchtern mittels Entblutung durch Karotisdurchschneidung getötet. An Ort und Stelle wurden Leber und Muskel in bestimmter Menge entnommen, und an jeder Probe der Gehalt an freiem Zucker und an Glykogen ermittelt. Die erhaltenen Bestimmungsergebnisse sind in Tabelle XII wiedergegeben. Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, ist es besonders ins Auge fallend, dass je nach dem Individuum der Tiere der Glykogenwert relativ deutlich schwankt, während sich die freie Zuckermenge individuell fast gar nicht verschiebt. So beträgt der Gehalt der Leber an freiem Zucker 1068–1342 mg% und der des Muskels 92–168 mg%.

Diese Ergebnisse haben aber insofern Interesse, als der Gehalt an freiem Zucker stets einen konstanten Wert zeigt, während der Gehalt an freiem Zucker sowie an Glykogen in der Hungerleber offenbar mit der Hungerzeit abnimmt, ja das Glykogen aus der Leber schon nach 4 Hungertagen vollständig verschwindet. Zu dieser Zeit beträgt die freie Zuckermenge in der Leber nur noch etwa die Hälfte vom normalen Wert. Im Muskel lässt sich aber kein grosser Unterschied gegenüber dem normalen Wert erkennen.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Für die Erforschung des Kohlehydratstoffwechsels ist eine Parallelbestimmung des im Gewebe befindlichen freien Zuckers und des Glykogens immer das Wichtigste. Die Bestimmung dieser Stoffe wird aber nur durch Heranziehung der vorliegenden Bestimmungsmethode genau ermöglicht.

2. Die Methode besteht darin, dass man das zu untersuchende Gewebe durch Einwirkung von Säure oder Lauge zu einer vollständig klaren Lösung bringt, um damit Gewebezucker und -Glykogen in Freiheit zu setzen und alsdann den Wert dieser Stoffe zu ermitteln. Der dadurch erzielbare Wert entspricht daher stets der gesamten Menge dieser Stoffe im Gewebe.

3. Diese Methode ist selbst an Hand einer nur geringen

TABELLE XII.

Versuch	Kaninchen (Geschlecht u. Körper- gewicht) kg	Organ	Augewand- te Menge des Organs mg	Gärbarer Gesamtzucker		Invert-zucker vom Glykogen her		Freier Zucker mg%
				mg	mg%	mg	mg%	
1	♂ 2,100	Leber	225 227	7,900 —	3511 —	— 5,250	— 2313	1198
		Muskel	494 496	2,150 —	435 —	— 1,700	— 342	93
2	♀ 2,150	Leber	225 230	7,150 —	3178 —	— 4,550	— 1978	1200
		Muskel	481 494	2,650 —	550 —	— 2,000	— 405	145
3	♂ 2,200	Leber	229 229	4,550 —	1987 —	— 1,850	— 808	1179
		Muskel	499 497	3,300 —	661 —	— 2,450	— 493	168
4	♀ 2,000	Leber	222 220	10,750 —	4842 —	— 7,700	— 3500	1342
		Muskel	496 491	1,800 —	363 —	— 1,100	— 224	139
5	♂ 2,100	Leber	219 223	7,150 —	3265 —	— 4,900	— 2197	1068
		Muskel	488 487	2,350 —	482 —	— 1,900	— 390	92
6	♂ 2,300	Leber	222 223	9,000 —	4054 —	— 6,550	— 2937	1117
		Muskel	491 491	1,600 —	326 —	— 0,950	— 193	133
7	Hungern- des Kanin- chen ♀ 1,900	Leber	238 240	2,300 —	966 —	— 0,650	— 271	695
		Muskel	493 499	2,450 —	497 —	— 1,850	— 371	126
8	"♀ 1,800	Leber	255 262	1,350 —	529 —	— 0	— 0	529
		Muskels	495 497	2,100 —	424 —	— 1,400	— 282	142

Materialmenge noch durchführbar. Beachtenswert ist, dass andere reduzierende Substanzen ausser Glukose bei der totalen Ausflockung des Eiweisses durch ZnSO_4 zum Teil auch mitgerissen werden, so dass die Gärung im ZnSO_4 -Filtrat keineswegs verhindert wird.

4. Infolge der ziemlich reichlichen Anwendung von stark gärfähiger Hefe gelangt die Gärung in kürzester Frist zum Abschluss.

5. Die Prüfung auf Resultat-Schwankungen ergibt, dass die Ergebnisse nur noch geringfügigen Schwankungen unterworfen sind. Ebenso zeigt sich im Zusatzversuch mit Glukose und Glykogen, dass sich der berechnete und der gefundene Wert in weitgehendstem Masse decken. Diese Umstände zeigen fraglos eine recht grosse Zuverlässigkeit dieser Methode an.

6. Aus den Feststellungen auf Grund unserer Methode ist ohne weiteres ersichtlich, dass die Menge des Glykogens einer grossen individuellen Schwankung unterworfen ist, während der freie Gewebszucker hingegen individuell fast übereinstimmende Resultate ergibt.

7. Lässt man nun auf das Organ resp. Gewebe eine starke Säure oder Lauge einwirken, so bekommt man eine bei weitem grössere Menge des nicht-gärbaren Zuckers, der normalerweise schon ca. $1/2$ – $1/3$ des gesamten Reduktionswertes ausmacht.

Es ist uns eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. M. Takeda für seine stets bereitwillige Leitung und Herrn Prof. Dr. S. Kakiuchi an der Kaiserlichen Universität zu Tokio für Ratschläge und Korrekturen auch an dieser Stelle unseren aufrichtigen Dank zu sagen.

LITERATUR.

Doi, N. (1932): The Journal of biochemistry, 15.

Nakamura, K. (1929): Keoi-Igaku-Zasshi, 9.

Somiogyi, M. (1930): J. Biol. Chem., 86.

Takahata, T. und Kume, S. (1926): Fukuoka-Ikadanigaku-Zasshi, 27.

ÜBER DIE PHOSPHORSÄUREVERBINDUNGEN IM BLUT NACH DER LECITHININJEKTION.

VON

Y. SUEYOSHI UND T. OKONOGL.

(*Med.-Chemisches Institut der Keiō-Universität, Tokyo*)

(Eingegangen am 7. Juli 1933)

EINLEITUNG.

Das im Blute verschiedene Phosphorsäureverbindungen enthalten sind, von denen jeder eine wichtige physiologische Bedeutung zukommt, ist kürzlich offenbar gemacht worden. Daher ist es eine interessante Aufgabe, zu untersuchen, in welche Phosphorsäureverbindung im Blute die Lecithinphosphorsäure sich verwandelt. Das hat uns veranlasst, Versuche daraufhin anzustellen.

METHODIK.

Als Versuchstiere wurden männliche Kaninchen verwendet, welche vor dem Versuche täglich mit einer bestimmten Menge Okara gefüttert und ruhig im Käfig gehalten wurden.

Die Blutphosphorbestimmungen wurden nach dem Verfahren von Naitô (1928) ausgeführt. Der säurelösliche Phosphor wurde an dem nach Enteiweissung mit Trichloressigsäure gewonnenen Filtrat und der Lipoidphosphor nach Whitehorn (1924) bestimmt. Das verwendete Lecithin wurde nach der Sueyoshi'schen Methode (1931) aus Eigelb dargestellt.

I. Vorversuche.

An Kaninchen wurden, nachdem ihnen eine gewisse Menge Futter gegeben worden war, die Phosphorsäureverbindungen im Blute bestimmt.

Das Blut wurde ihnen erst beim Hunger, dann nach ihrer Fütterung mit 50 g Okara pro Kilogramm Körpergewicht alle zwei Stunden entnommen und zum Versuche gebraucht. Die Ergebnisse zeigt Tab. I.

TABELLE I.

Phosphorverb.		Anorgan.-P. (mg. %)			Säurelös.-P. (mg. %)			Lipoid.-P. (mg. %)		
Kaninch. Nr.		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Vor d. Nahr.		7.35	10.62	11.78	36.45	37.01	40.95	1.904	3.455	3.366
nach der Nahr.	2 St.	12.04	11.42	10.27	41.34	38.39	40.16	1.993	1.639	3.809
	4 St.	11.51	9.30	9.48	39.13	41.05	42.08	1.594	2.347	0.137
	6 St.	7.97	8.50	10.18	36.17	36.91	38.39	1.639	1.904	1.550

Aus der obigen Tabelle ersieht man, dass keine von den säurelöslichen sowie lipoiden Phosphorverbindungen grosse Schwankungen erkennen lässt.

II. Lecithinfütterungsversuche.

A) Die Versuche wurden nach demselben Verfahren angestellt, wie die Vorversuche, nur dass den Tieren als Futter 50 g Okara, mit 5 g Lecithin gemischt, gegeben wurde. 5 Stunden hiernach wurde die Blutentnahme und darauf die Analyse vorgenommen.

Die Ergebnisse sind aus der Tabelle II ersichtlich. Die Vergleichung der Ergebnisse in der II. mit denen in der I. Tabelle ergibt fast keine Veränderungen.

TABELLE II.

Kaninch. Nr.	Anorgan.-P. (mg. %)	Säurelös.-P. (mg. %)
1	8.94	42.08
2	10.98	40.97
3	11.21	42.98

B) Dann wurde eine grosse Menge Lecithin gegeben; es wurden nämlich im ersten Falle 45 g, im zweiten 30 g Lecithin mit Wasser zu einer Emulsion gemacht, welche man mit der Sonde den Tieren in den Magen einführte. Die Versuchsweise war dieselbe wie die vorige. Die Resultate sind in Tabelle III verzeichnet.

TABELLE III.

n. d. Einführ.	Anorg. P. (mg. %)		Säurelös.-P. (mg. %)		Lipoid.-P. (mg. %)	
Kaninch. Nr.	3	4	3	4	3	4
3 St.	9.30	11.34	45.40	48.28	3.80	3.36
5 St.	12.04	10.27	45.85	48.50	3.72	4.20
7 St.	14.53	10.72	45.40	—	3.67	3.45
9 St.	12.84	13.82	44.96	48.50	3.14	2.96

Die Resultate in dieser Tabelle zeigen, dass in der Menge die anorganische Phosphorsäure fast nicht verändert wird, die säurelösliche zur Vermehrung neigt und die Lipoidphosphorsäure etwas vermehrt ist.

Nach den obigen Ergebnissen lässt der Gehalt an den Phosphorsäureverbindungen auch bei peroraler Darreichung von Lecithin keine auffallende Schwankung erkennen.

III. Lecithininjektionsversuche.

Da, wie oben erwähnt, die perorale Darreichung von Lecithin an den Phosphorsäureverbindungen im Blute keine deutlichen Veränderungen hervorgebracht hat, so haben wir durch Injektion von Lecithin in ein Blutgefäß Versuche angestellt.

A. Zur Einspritzung von Lecithin in das Blutgefäß gebrauchten wir 20 ccm einer 15 proz. Emulsion, mit einer isotonischen Rohrzuckerlösung hergestellt. Zuerst wurde untersucht, wie die Menge der Phosphorsäureverbindungen im Blute nach der Injektion von 20 ccm der letzteren allein schwankt. Diese Ver-

TABELLE IV.

P.-Verbind.		Anorg.-P. (mg. %)	Säurelös.-P. (mg. %)	Lipoid.-P. (mg. %)
v. d. Inj.		9.74	36.99	1.95
Nach der Inj.	2 St.	12.04	42.30	2.39
	4 St.	13.00	33.98	1.86
	6 St.	12.04	40.97	1.06
	8 St.	11.60	34.11	2.56

suchsergebnisse zeigen, wie aus der Tabelle IV ersichtlich, dass alle Phosphorsäureverbindungen in der Menge keine Veränderungen haben.

B. Die Ergebnisse nach der Einspritzung von 20 ccm einer 15 proz. Lecithinlösung stehen in der Tabelle V.

TABELLE V.

P.-Verbind.		Anorg.-P. (mg. %)	Säurelos.-P. (mg. %)	Lipoid-P. (mg. %)
v. d. Inj.		13.52	33.44	2.34
Nach der Inj.	2 St.	10.89	43.63	9.35
	4 St.	10.80	33.22	6.64
	6 St.	10.63	38.76	9.21
	8 St.	9.01	39.87	12.01

Hier zeigt die Lipoidphosphorsäure klare Vermehrung, die anderen Phosphorsäureverbindungen fast keine Schwankung.

C. Die Ergebnisse unter B sind innerhalb 8 Stunden nach der Injektion gewonnen. Verff. haben noch länger dauernde weitere Versuche angestellt, deren Resultate aus der Tabelle VI zu ersehen sind.

TABELLE VI.

P.-Verbind.		Anorg.-P. (mg. %)		Säurelös.-P. (mg. %)		Lipoid.-P. (mg. %)	
Kaninch. Nr.		5	6	5	6	5	6
vor d. Inj.		9.30	7.17	39.24	29.90	2.35	2.87
Nach der Inj.	15 St.	7.53	—	49.96	—	15.59	—
	18 St.	—	8.09	—	52.45	—	8.28
	24 St.	5.58	7.09	51.73	35.66	13.73	3.76
	41 St.	9.83	7.97	61.25	36.20	15.51	2.26
	46 St.	6.99	—	43.98	—	8.01	—
	48 St.	—	6.84	—	35.63	—	1.37

Unter den Kaninchen zeigt bei Nr. 5 die anorganische Phosphorsäure keine grosse Schwankung, die säurelösliche Phosphor-

säure schon 15 Stunden nach der Injektion eine Vermehrung und in 41 Stunden das Maximum und die Lipoidphosphorsäure eine starke Vermehrung, welche in 46 Stunden noch fort dauert.

Auch bei Nr. 6 lässt die anorganische Phosphorsäure keine Veränderung, die säurelösliche Phosphorsäure und Lipoidphosphorsäure in 18 Stunden das Maximum erkennen.

Diese Versuchsergebnisse zeigen, dass etwa 24 Stunden nach der Einspritzung von Lecithin die Lipoidphosphorsäure und säurelösliche Phosphorsäure eine Vermehrung erfahren.

D. Um zu wissen, bei welchem Bestandteil des Blutes die oben erwähnte Vermehrung der säurelöslichen Phosphorsäure und Lipoidphosphorsäure im Blute nach der Einführung von Lecithin vorkommt, bei dem Blutkörperchen oder dem Blutplasma, wurden Versuche gemacht.

Die Lecithinlösung wurde mit einer isotonischen NaCl-Lösung hergestellt. Daher wurden erst die Schwankungen der Phosphorsäureverbindungen im Blute durch die Injektion dieser isotonischen Kochsalzlösung allein bestimmt.

Die Resultate zeigt Tabelle VII.

TABELLE VII.

P.-Verbind.		Anorg.-P. (mg.)			Säurelös.-P. (mg. %)			Lipoid.-P. (mg.)		
Blut		Voll.	Plasm.	Körp.	Voll.	Plasm.	Körp.	Voll.	Plasm.	Körp.
vor d. Inj.		7.53	3.48	4.05	40.75	4.13	36.62	1.81	1.07	0.74
Nach der Inj.	18 St.	7.53	3.18	4.35	38.76	6.49	32.27	1.99	1.12	0.87
	41 St.	7.97	3.52	4.45	35.44	5.68	29.76	1.98	1.28	0.70
	48 St.	6.95	4.00	2.95	37.42	4.92	32.50	2.13	1.03	1.10

TABELLE VIII. A. (Kaninch. 8)

P.-Verbind.		Anorg.-P. (mg. %)			Säurelös.-P. (mg. %)			Lipoid.-P. (mg.)		
Blut		Voll.	Plasm.	Körp.	Voll.	Plasm.	Körp.	Voll.	Plasm.	Körp.
v. d. Inj.		7.35	2.37	4.98	37.21	2.65	34.56	1.94	0.60	1.34
n. d. Inj.		8.68	1.65	7.03	44.96	2.34	42.62	4.51	2.16	2.35

TABELLE VIII. B. (Kaninch. 9)

P.-Verbind.	Anorg.-P. (mg. %)			Säurelös.-P. (mg. %)			Lipoid.-P. (mg. %)		
	Voll.	Plasm.	Körp.	Voll.	Plasm.	Körp.	Voll.	Plasm.	Körp.
v. d. Inj.	6.46	1.63	4.83	35.88	2.12	33.75	2.12	0.77	1.35
n. d. Inj.	10.45	1.99	8.46	45.62	3.71	41.91	12.09	4.23	7.86

Aus der Tabelle VII erhellt, dass keine der Phosphorsäureverbindungen Veränderungen zeigt.

Dann wurden 24 Stunden nach der Injektion von 20 ccm einer 15 proz. Lecithinlösung Analysen gemacht, deren Ergebnisse die Tabellen VIII A und VIII B zeigten.

Diese Versuche haben ergeben, dass die säurelösliche Phosphorsäure bei den Blutkörperchen, die Lipoidphosphorsäure aber bei den Blutkörperchen und dem Blutplasma vermehrt wird.

SCHLUSSFOLGERUNG.

Aus den obigen Ergebnissen wird geschlossen,

1. dass die Einführung von Lecithin in ein Blutgefäß etwa 24 Stunden danach die säurelösliche Phosphorsäure und die Lipoidphosphorsäure im Blute zur Vermehrung bringt, und

2. dass die säurelösliche Phosphorsäure hauptsächlich bei den Blutkörperchen, aber die Lipoidphosphorsäure bei den Blutkörperchen und dem Blutplasma an Menge wächst.

LITERATUR.

Saitô (1928): Jour. of Biochem. 9, 45.

Sueyoshi (1931): Jour. of Biochem., 13, 145.

Whitehorn: (1924): Jour. biol. Chem., 62, 133.

INDEX TO VOLUME XIX.

A

ABE, Minoru. The availability of fructose in the body of normal and diabetic animals. 69.

Adrenalectomized rabbit, The effect of adrenalin on the liver glycogen in ———s. 391.

Adrenalin, On the carbohydrate tolerance of guinea pigs fed on a vitamin C free diet, and changes in the blood sugar content of the animals after the parenteral administration of ——— and insulin. 257.

Adrenalin, The effect of ——— on the liver glycogen in adrenalectomized rabbits. 391.

Ammoniakgas, Messung der Gewebsatmung und Glykolyse beim Auftreten des ———es. 377.

ASAEDA, JUN-ITI and PAUL T. SHEN. The effect of adrenalin on the liver glycogen in adrenalectomized rabbits. 391.

B

Barbitursäure, Über einige Furanverbindungen der ———. 7.

Biochemical studies on carbohydrates. 319.

Biosynthetic osides, On an enzyme which catalyses the hydrolysis of ——— of glucuronic acid. 353.

Blood, Micromethod for determination of glucosamine in ———, tissue and urine. 319.

Blood sugar, On the carbohydrate

tolerance of guinea pigs fed on a vitamin C free diet, and changes in the ——— content of the animals after the parenteral administration of adrenalin and insulin. 257.

Blut, Über die Phosphorsäureverbindungen im ——— nach der Lecithininjektion. 489.

Blut, Vergleichende Betrachtung d. Zuckergehaltes in ———, Lymphe und Galle. 237.

Blutbahn, Über die Abführwege der in der Leber produzierten Substanzen in die ———. 231, 237.

Blutmilchsäurespiegel, Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen verschiedener Zuckerarten sowie zuckerbildender Substanzen zum ———. 111.

C

Ca, Einfluss der Cholsäure auf die Ausscheidungen von Na, K, ——— und Mg im Darmsaft. 437.

Carbohydrate, Biochemical studies on ———s. 319, 353.

Carbohydrate tolerance, On the ——— of guinea pigs fed on a vitamin C free diet, and changes in the blood sugar content of the animals after the parenteral administration of adrenalin and insulin. 257.

Casein, The distribution of methionine in several proteins of feeding-stuffs and ———. 345.

Cholin, Über die Spaltung des ——— im Organismus. 201.

- Cholsäure, Die Zuckerausscheidungs-
schwelle unter dem Einfluss der
—— und der Milz. 409.
- Cholsäure, Einfluss der —— auf den
pH und die Phosphataus-
scheidung im Darmsaft. 425.
- Cholsäure, Einfluss der auf die Aus-
scheidungen von Na, K, Ca und
Mg im Darmsaft. 437.

D

- Darmsaft, Einfluss der Cholsäure auf
den pH und die Phosphataus-
scheidung im ——, 425.
- Darmsaft, Einfluss der Cholsäure auf
die Ausscheidungen von Na, K,
Ca und Mg im ——, 437.
- Diabetic animal, The availability of
fructose in the body of normal
and —— s. 69.
- Diazoharn, Zur Kenntnis des —— s.
33, 39.
- Dog, Studies on secretagogues in
gastric juice of ——, 329.
- Doi, Niraichi, Über den wahren
Gewebszucker und das Glykogen,
insbesondere über die Mikro-
bestimmung derselben. 469.
- Durchblutungsversuche des Magens.
449.

E

- Elektrische Erscheinungen, Unter-
suchungen über —— an der
Hornhaut. 145, 165, 173, 185.
- Elektrische Ladung der Hornhaut.
173.
- Elektrolytlösungen, Die Potential-
differenz der Hornhaut gegen
——, 145.
- Enzyme, On an —— which catalyses
the hydrolysis of biosynthetic
osides of glucuronic acid. 353.

F

- Feeding-stuff, The distribution of
methionine in several proteins of
——s and Casein. 345.
- Fishgalle, Beiträge zur Kenntnis der
Taurocholsäure aus ——, 249.
- Fructose, The availability of —— in
the body of normal and diabetic
animals. 69.

G

- Galle, Vergleichende Betrachtung d.
Zuckergehaltes in Blut, Lymphe
und ——, 237.
- Gallensäure, Beiträge zur Kenntnis
der Glykogenbildung der Leber
durch ——, 315.
- Gallensäure, Die Bedeutung der ——
im Kohlehydratstoffwechsel. 409.
- Gallensäure, Einfluss der —— auf die
Wasserstoffionenkonzentration des
Harns. 245.
- Gallensäure, Über den Einfluss der
—— auf die Nucleinverdauung.
425, 437.
- Gallensäure, Über die Beziehung
zwischen der Harnreaktion und
der Magenacidität unter dem
Einfluss der ——, 403.
- Gastric juice, Studies on secreta-
gogues in —— of dog. 329.
- Gaswechsel, Studien über —— des
Gewebes in Vitro. 377.
- Gewebe, Über die geschlechtlichen
Unterschiede des Oxydations-
und Reduktionsvermögens in den
—— n. 45.
- Gewebsatmung, Messung der —— und
Glykolyse beim Auftreten des
Ammoniakgases. 377.
- Gewebsatmung, Studien über die ——
und die Indophenoloxidasereak-
tion der serösen Membranen. 59.

- Gewebazucker, Über den wahren — und das Glykogen, insbesondere über die Mikrobestimmung derselben. 469.
- Glucosamin, Micromethod for determination of — in blood tissue and urine. 319.
- Glucuronic acid, On an enzyme which catalyses the hydrolysis of biosynthetic osides of — —. 353.
- Glycuronic acid, On the ability of — — formation in the body of guinea pigs fed on a vitamin C free diet. 253.
- Glykogenbildung der Leber, Beiträge zur Kenntnis der — — durch Gallensäure. 315.
- Glykogen, Über den wahren Gewebazucker und das —, insbesondere über die Mikrobestimmung derselben. 469.
- Glykolyse, Messung der Gewebsatmung und — beim Auftreten des Ammoniakgases. 377.
- Guinea pig, On the ability of glycuronic acid formation in the body of — —s fed on a vitamin C free diet. 253.
- Guinea pig, On the carbohydrate tolerance of — —s fed on a vitamin C free diet, and changes in the blood sugar content of the animals after the parenteral administration of adrenalin and insulin. 257.
- H**
- HANADA, Minoru, TOMIYAMA, Tetsuo. The distribution of methionine in several proteins of feedingstuffs and casein. 345.
- Harn, Einfluss der Gallensäure auf die Ausscheidung des Kochsalzes, Kaliums und Natriums im Harn. 403.
- Harn, Einfluss der Gallensäure auf die Wasserstoffionenkonzentration des —s. 245.
- Harnreaktion, Über die Beziehung zwischen der — und der Magenacidität unter dem Einfluss der Gallensäure. 403.
- Harnstoff, Über Durchblutungsversuche des Magens mit —. 449.
- Harnstoffgehalt, Vergleichende Betrachtung d. —es im Blute u. in der Lymphe. 231.
- HASEGAWA, Takuro. Über die Beziehung zwischen der Harnreaktion und der Magenacidität unter dem Einfluss der Gallensäure. I. Einfluss der Gallensäure auf die Ausscheidung des Kochsalzes, Kaliums und Natriums im Harn. 403.
- HAYASHI, Katsuzo. Untersuchungen über elektrische Erscheinungen an der Hornhaut.
- I. Mitteilung: Die Potentialdifferenz der Hornhaut gegen Elektrolytlösung. 145.
- II. Mitteilungen: Fortgesetzte Untersuchungen über Potential an der Hornhaut. 165.
- III. Elektrische Ladung der Hornhaut. 173.
- IV. Der Isoelektrische Punkt d. Hornhaut und Schlussbetrachtung. 185.
- Hornhaut, Der Isoelektrische Punkt d. — und Schlussbetrachtung. 185.
- Hornhaut, Die Potentialdifferenz der — gegen Elektrolytlösungen. 145.
- Hornhaut, Elektrische Ladung der —. 173.

Hornhaut, Fortgesetzte Untersuchungen über Potentiale an der ——. 165.

Hornhaut, Untersuchungen über elektrische Erscheinungen an der ——. 145, 165, 173, 185.

I

Indophenoloxidasereaktion, Studies über die Gewebsatmung und die — der serösen Membranen. 59.

Insulin, On the carbohydrate tolerance of guinea pigs fed on a vitamin C free diet, and changes in the blood sugar content of the animals after the parenteral administration of adrenalin and ——. 257.

INUTSUKA, Mamoru. Beiträge zur Kenntnis des Kohlenhydratstoffwechsels. 217.

ISEKI, Toshinori. Über einige Furanverbindungen der Barbitursäure. 7.

ISEKI, Toshinori. Zur Kenntnis der Konstitution des Ovomukoides. 1.

K

K, Einfluss der Cholsäure auf die Ausscheidungen von Na, —, Ca und Mg im Darmsaft. 437.

KAGIYAMA, S. u. KIYOHARA, K. Studies über die Gewebsatmung und die Indophenoloxidasereaktion der serösen Membranen. 59.

KAGIYAMA, Sakae. Über die geschlechtlichen Unterschiede des Oxydations- und Reduktionsvermögens in den Geweben. (Fünfte Mitteilung) Über den Einfluss der Keimdrüsen auf das Oxydations- und Reduktionsvermögen in den Geweben. 45.

Kalium, Einfluss der Gallensäure auf

die Ausscheidung des Kochsalzes, —s und Natriums im Harn. 403.

Kaninchenorganismus, Über das Verhalten der Methylprotocatechual-Barbitursäure im ——. 11.

KATAOKA, Eisei. Chemische Zusammensetzung der Schweinethymus. 21.

KATAOKA, Eisei. Eine neue Glycerinbestimmung. 15.

KATAOKA, Eisei. Über das Verhalten der Methylprotocatechual-Barbitursäure im Kaninchenorganismus. 11.

KATAOKA, Eisei. Vergleichende Untersuchung der chemischen Zusammensetzung des Pankreas. 25.

KAWABE, Kinji. Biochemical studies on carbohydrates. III. Micro-methode for determination of glucosamine in blood, tissue and urine. 319.

Keimdrüsen, Über den Einfluss der — auf das Oxydations- und Reduktionsvermögen in den Geweben. 45.

KIYOHARA, K. und KAGIYAMA, S. Studies über die Gewebsatmung und die Indophenoloxidasereaktion der serösen Membranen. 59.

Kochsalz, Einfluss der Gallensäure auf die Ausscheidung des —es, Kaliums und Natrium im Harn. 403.

Kohlenhydratstoffwechsel, Die Bedeutung der Gallensäure im ——. 409.

KOIKE, Tatsusaburo. Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen verschiedener Zuckerarten sowie zuckerbildender Substanzen zum Blutmilchsäurespiegel. 111.

KUMAMI, Shiro. Über den Schwefelgehalt des Pankreasblutes und der Thoracicuslymphe. II. Mitteilung. 457.

KURAMOTO, Tsuneo. Beiträge zur Kenntnis der Glykogenbildung der Leber durch Gallensäure. 315.

KURAMOTO, Tsuneo. Einfluss der Gallensäure auf die Wasserstoffionenkonzentration des Harns. 245.

KURAMOTO, Tsuneo. Über den Einfluss der Gallensäure auf die Nucleinverdauung. II. Einfluss der Cholsäure auf den pH und die Phosphatausscheidung im Darmsaft. 425.

III. Einfluss der Cholsäure auf die Ausscheidungen von Na, K, Ca und Mg im Darmsaft. 437.

KUSUI, MACHIDA und TSUNOO. Über die Abführwege der in der Leber produzierten Substanzen in die Blutbahn. I. Vergleichende Betrachtung d. Harnstoffgehaltes im Blut u. in der Lymphe. 231.

II. Vergleichende Betrachtung d. Zuckergehaltes in Blut, Lymphe und Galle. 237.

L

Leber, Beiträge zur Kenntnis der Glykogenbildung der — durch Gallensäure. 315.

Leber, Über die Abführwege der in der — produzierten Substanzen in die Blutbahn. 231, 237.

Lecithininjektion, Über die Phosphorsäureverbindungen im Blut nach der —. 489.

Lymphe, Vergleichende Betrachtung d. Harnstoffgehaltes im Blute u. in der —. 231.

Lymphe, Vergleichende Betrachtung

d. Zuckergehaltes in Blut, — und Galle. 237.

M

MACHIDA, KUSUI, und TSUNOO. Über die Abführwege der in der Leber produzierten Substanzen in die Blutbahn. I. Vergleichende Betrachtung d. Harnstoffgehaltes im Blut u. in der Lymphe. 231.
II. Vergleichende Betrachtung d. Zuckergehaltes in Blut, Lymphe und Galle. 237.

Magen, Durchblutungsversuche des —s. 449.

Magenacidität, Über die Beziehung zwischen der Harnreaktion und der — unter dem Einfluss der Gallensäure. 403.

MAKINO, Hiroshi. Beiträge zur Kenntnis der Taurocholsäure aus Fishgalle. 249.

MASAMUNE, H. Biochemical studies on carbohydrates. IV. On an enzyme which catalyses the hydrolysis of biosynthetic osides of glucuronic acid. 353.

Maser, Über die chemische Zusammensetzung des Diazoharns bei —n. 39.

Methylprotocatechual - Barbitursäure, Über das Verhalten der — im Kaninchenorganismus. 11.

Mg, Einfluss der Cholsäure auf die Ausscheidungen von Na, K, Ca und — im Darmsaft. 437.

Micromethod for determination of glucosamine in blood, tissue and urine. 319.

Mikrobestimmung, Über den wahren Gewebszucker und das Glykogen, insbesondere über die — derselben. 469.

Milz, Die Zuckerausscheidungsschwelle

unter dem Einfluss der Cholsäure und der —, 409.

MIYAZAKI, Masaki. Studies on secretagogues in gastric juice of dog. 329.

N

Na, Einfluss der Cholsäure auf die Ausscheidungen von —, K, Ca und Mg im Darmsaft. 437.

NAKASHIMA, Teiji. Chemische Untersuchungen über die Entstehung des Naphtalin-Katarakte. 281.

NAKAYAMA, Sadajiro. Zur Kenntnis des Diazoharns.

III. Über die chemische Zusammensetzung des Diazoharns bei Scharlach. 33.

IV. Über die chemische Zusammensetzung des Diazoharns bei Masern. 39.

Naphtalin-Katarakte, Chemische Untersuchungen über die Entstehung des —, 281.

Natrium, Einfluss der Gallensäure auf die Ausscheidung des Kochsalzes, Kaliums und —s im Harn. 403.

Nucleinverdauung, Über den Einfluss der Gallensäure auf die —. 425, 437.

O

OGATA, Yusiro. Studien über Gaswechsel des Gewebes in Vitro. VI. Messung der Gewebsatmung und Glykolyse beim Auftreten des Ammoniakgases. 377.

OKONOGI, T. u. SUEYOSHI, Y. Über die Phosphorsäureverbindungen im Blut nach der Lecithininjektion. 489.

Ovomukoid, Zur Kenntnis der Konstitution des —es. 1.

Oxydation, Über die geschlechtlichen

Unterschiede des — und Reduktionsvermögens in den Geweben. 45.

P

Pankreas, Vergleichende Untersuchung der chemischen Zusammensetzung des —, 25.

Pankreasblut, Über den Schwefelgehalt des —es und der Thoracicuslymphe. 457.

pH, Einfluss der Cholsäure auf den — und die Phosphatausscheidung im Darmsaft. 425.

Phosphatausscheidung, Einfluss der Cholsäure auf den pH und die — im Darmsaft. 425.

Phosphorsäureverbindungen, Über die — im Blut nach der Lecithininjektion. 489.

Potentialdifferenz, Die — der Hornhaut gegen Elektrolytlösungen. 145.

Rabbit, The effect of adrenalin on the liver glycogen in adrenalectomized —s. 391.

Reduktionsvermögen, Über die geschlechtlichen Unterschiede des Oxydations- und —s in den Geweben. 45.

S

Scharlach, Über die chemische Zusammensetzung des Diazoharns bei —. 33.

Schwefelgehalt, Über den — des Pankreasblutes und der Thoracicuslymphe. 457.

Schweinethymus, Chemische Zusammensetzung der —. 21.

Seurvy, Studies in experimental —. 253, 257.

Secretagogues, Studies on — in gastric juice of dog. 329.

SHEN, Paul T. and ASAEDA, Jun-iti.

The effect of adrenalin on the liver glycogen in adrenalectomized rabbits. 391.

SHIMADA, Jitsuichi. Studies in experimental scurvy. XVII. On the ability of glycuronic acid formation in the body of guinea pigs fed on a vitamin C free diet. 253. XVIII. On the carbohydrate tolerance of guinea pigs fed on a Vitamin C free diet, and changes in the blood sugar content of the animals after the parenteral administration of adrenalin and insulin. 257.

SUEYOSHI, Y. und OKONOJI, T. Über die Phosphorsäureverbindungen im Blut nach der Lecithininjektion. 489.

SUMIDA, Seiichi. Durchblutungsversuche des Magens. IV. Mitteilung. Über Durchblutungsversuche des Magens mit Harnstoff. 449.

T

TATEISHI, Chikara. Die Bedeutung der Gallensäure im Kohlehydratstoffwechsel. XXIX. Die Zuckerausscheidungsschwelle unter dem Einfluss der Cholsäure und der Milz. 409.

Taurocholsäure, Beiträge zur Kenntnis der — aus Fishgalle. 249.

Thoracicuslymphe, Über den Schwefelgehalt des Pankreasblutes und der —. 457.

Tissue, Micromethod for determination of glucosamine in blood, — and urine. 319.

TODA, Kuni. Über die Spaltung des Cholins im Organismus. 201.

TOMIYAMA, Tetsuo and HANADA, Mi-

noru. The distribution of methionine in several proteins of feeding-stuffs and casein. 345.

TSUNOO, MACHIDA und KUSUI. Über die Abführwege der in der Leber produzierten Substanzen in die Blutbahn. I. Vergleichende Betrachtung d. Harnstoffgehaltes im Blute u. in der Lymphe. 231. II. Vergleichende Betrachtung d. Zuckergehaltes in Blut, Lymphe und Galle. 237.

U

Urine, Micromethode for determination of glucosamine in blood, tissue und —. 319.

V

Vitamin C free diet, On the ability of glycuronic acid formation in the body of guinea pigs fed on a — — —. 253.

Vitamin C free diet, On the carbohydrate tolerance of guinea pigs fed on a — — — and changes in the blood sugar content of the animals after the parenteral administration of adrenalin and insulin. 257.

W

Wasserstoffionenkonzentration des Harns, Einfluss der Gallensäure auf die — — —. 245.

Z

Zuckerausscheidungsschwelle, Die — unter dem Einfluss der Cholsäure und der Milz. 409.

Zuckergehalt, Vergleichende Betrachtung d. —es im Blut, Lymphe und Galle. 237.

印 檢



Contents

No. 3, May, 1934.

OGATA, Yusiro. Studien über Gaswechsel des Gewebes in Vitro. VI. Messung der Gewebsatmung und Glykolyse beim Auftreten des Ammoniakgases	377
ASAEDA, Jun-iti and SHEN, T. Paul. The Effect of adrenalin on the liver glycogen in adrenalectomized rabbits	391
HASEGAWA, Takurô. Über die Beziehung zwischen der Harnreaktion und der Magenacidität unter dem Einfluss der Gallensäure. I. Einfluss der Gallensäure auf die Ausscheidung des Kochsalzes, Kaliums und Natriums im Harn	403
TATEISHI, Chikara. Die Bedeutung der Gallensäure im Kohlehydratstoffwechsel. XXIX. Die Zuckerausscheidungsschwelle unter dem Einfluss der Cholsäure und der Milz	409
KURAMOTO, Tsuneo. Über den Einfluss der Gallensäure auf die Nucleinverdauung. II. Einfluss der Cholsäure auf den PH und die Phosphatausscheidung im Darmsaft	425
III. Einfluss der Cholsäure auf die Ausscheidungen von Na, K, Ca und Mg im Darmsaft	437
SUMIDA, Seichi. Durchblutungsversuche des Magens. IV. Mitteilung. Über Durchblutungsversuche des Magens mit Harnstoff	449
KUMAMI, Shiro. Über den Schwefelgehalt des Pankreasblutes und der Thoracicuslymphe. II. Mitteilung	457
DOI, Niraichi. Über den wahren Gewebszucker und das Glykogen, insbesondere über die Mikrobestimmung derselben	469
SUEYOSHI, Y. und OKONOGI, T. Über die Phosphorsäureverbindungen im Blut nach der Lecithininjektion	489